

### MIKROBIOLOGISCHE ZUSTANDSÜBERWA- CHUNG DES DENTALEN BIOFILMS WÄH- REND DER ANWENDUNG VON CHLORHE- XIDIN UND XYLITOL IM RAHMEN EINER KOMPLEXEN MEDIKAMENTÖSEN BEHAND- LUNG VON FRÜHKINDLICHER KARIES

E.V. KIRILLOVA, *Doktorandin der pädiatrischen  
Abteilung für therapeutische Zahnheilkunde der  
MSMSU*

V.N. TSAREV, *Leiter der Abteilung für Mikrobiolo-  
gie, Virologie und Immunologie der MSMSU, Dr.  
med., Professor*

L.P. KISELNIKOVA, *Leiterin der pädiatrischen  
Abteilung für therapeutische Zahnheilkunde der  
MSMSU, Dr. med., Professorin*

V.O. ARTEMOVA, *wissenschaftliche Mitarbeite-  
rin des Labors für molekularbiologische Unter-  
suchungen am medizinisch-stomatologischen  
Forschungsinstitut*

#### Abstract

*Die Verbreitung von frühkindlicher Karies (ECC) ruft Diskussionen aufkommen über die Notwendigkeit der Anwendung medikamentöser und prophylaktischer Mittel zum Zweck der Beeinflussung der pathogenen Mikroflora, einem bedeutenden Faktor der Ätiopathogenese des beschriebenen Krankheitsbildes. Im Rahmen der laufenden Forschungsarbeit sind Vergleichsdaten zur antibak-*

## WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011 | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

*teriellen Effizienz von Präparaten mit Xylitol- und Chlorhexidingehalt erhoben worden. Ebenfalls ist die Wirkung dieser Präparate auf die Struktur der Mikrobiözönose des dentalen Biofilms untersucht worden.*

*Schlüsselworte: frühkindliche Karies, orale Mikroflora, Xylitol, Chlorhexidin.*

Trotz einer Vielzahl von Forschungsarbeiten zur Ätiopathogenese, zum klinischen Bild, zum Diagnostizieren, der Behandlung und Prophylaxe von frühkindlicher Karies [1, 4, 15], ist dies weiterhin eines der wichtigsten Probleme, die ein Kinderzahnarzt aufgrund der weiten Verbreitung und Intensität dieser Erkrankung in vielen Ländern der Welt in seiner täglichen Arbeit zu lösen hat. [1, 4, 15, 20].

Die in den letzten zehn Jahren gesammelte Erfahrung bestätigt, dass die streptokokkische Mikroflora, insbesondere der *Streptococcus mutans* [15], einer der stärksten Auslöser von Karies und auch frühkindlicher Karies ist. Betrachtet man jedoch die komplexe und veränderliche Zusammensetzung von Zahnbelag, sollte hinzugefügt werden, dass auch andere Mikroorganismen in der Lage sind Karies hervorzurufen, auch wenn zu einem geringeren Prozent: *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus milleri*, *Lactobacillus*, *Actinomyces viscosus* [6].

Die Fähigkeit des *Streptococcus mutans* an glatten Zahnoberflächen zu haften und seine Fähigkeit Milchsäure zu produzieren gehören zu den bedeutendsten biologischen Eigenschaften dieses Bakteriums. Das Anhaften am Zahn trägt zur Bildung von Zahnbelag durch diese Mikroorganismen bei. Dieser Prozess wird

durch die Synthese von Glucosepolymeren aus Saccharose, die in Nahrungsmitteln enthalten ist, begünstigt. Die Bildung von Glucan führt zur interzellulären Aggregation von *Str. mutans* und vieler anderer Bakterien aus dem Zahnbelag. Die klebrige Glucan-Matrix des Zahnbelags verhindert die Ausbreitung der Unmengen der von den Mikroorganismen produzierten Säure und verlängert damit ihren Aufenthalt an der Zahnoberfläche, was wiederum zur Demineralisation des Zahnschmelzes und zur Entwicklung von Zahnkaries führt [6].

Es ist bereits bewiesen, dass ein Kind in den meisten Fällen von seiner Mutter oder den Menschen, die auf es aufpassen, mit der kariogenen Mikroflora angesteckt wird [15]. Die Reduktion der Quantität von *Streptococcus mutans* bei den Menschen, die ein Kind großziehen, könnte das Risiko der Entwicklung einer frühkindlichen Karies vermindern. Aus diesem Grund wird Eltern dazu geraten, ihre Mundhöhle zu desinfizieren, ihre Zähne gut zu pflegen und lokale medikamentöse und prophylaktische Mittel einzusetzen um die Aktivität der kariogenen Mikroflora einzudämmen, sollte eine hochgradige Kontaminierung des dentalen Biofilms mit kariogenen Mikroorganismen festgestellt worden sein.

Das Alter, in dem ein Kind mit *Streptococcus mutans* angesteckt wird, spielt eine wichtige Rolle, denn je früher eine Infektion auftritt, desto höher ist das Risiko und die Intensität kariöser Prozesse [18, 19]. Früher hielt man die Kolonisierung kariogener Mikroflora in der Mundhöhle eines zahnlosen Säuglings für vollkommen unmöglich. Doch zeigen klinische Studien der

## WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011 | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

In Fällen von frühkindlicher Karies werden die Milchzähne der Säuglinge praktisch sofort nach ihrem Durchbruch befallen. Die ersten kariösen Läsionen werden für gewöhnlich auf der vestibulären Fläche der Schneidezähne im Oberkiefer gefunden. Diese kariösen Läsionen sind in der Regel im Bereich des Zahnhalses zu finden und haben eine kreideähnliche Färbung (fokale Demineralisation). Innerhalb von nur zwei bis drei Monaten werden diese Nidi hellgelb. Danach werden an diesen Stellen kariöse Defekte sichtbar (Abbildung 1).

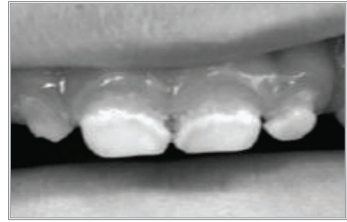


Abb. 1

Am häufigsten ist Zirkularkaries an den Schneide- und Eckzähnen des Oberkiefers zu finden. Häufig führt dieser zum Abbrechen der Zahnkrone. Auch kann Karies an eher untypischen Stellen im Gaumen, nämlich an den Zahnhälsen der oberen Schneide- und Eckzähne, auftreten. Eine große Menge von Zahnablagerungen ist charakteristisch für die Mundhöhlen von Säuglingen mit frühkindlicher Karies. Häufig sind diese Ablagerungen nur sehr schwer zu entfernen. Sie sind gelblich verfärbt und gehen mit katarrhalischer Gingivitis, Hyperämie und ödematösem Zahnfleisch am Alveolarfortsatz einher (Abbildung 2).



Abb. 2

letzten Jahre, dass der Streptococcus mutans in den Furchen der Zunge bereits vor dem Zahnen Kolonien bilden kann [23, 26, 27].

Die vertikale Übertragung ist jedoch nicht der einzige Weg der Übertragung kariogener Mikroflora innerhalb der Bevölkerung. Die genotypische Analyse von aus den Mundhöhlen von Säuglingen (im Alter von 12-30 Monaten) entnommenen Streptococcus mutans zeigte, dass die Mehrheit der Säuglinge identische Genotypen des Streptococcus mutans aufwiesen [22, 25]. Diese Tatsache beweist die Existenz der horizontalen Übertragung als Möglichkeit der Übertragung kariogener Mikroorganismen. Läsionen der Zähne von Säuglingen sind als klinisches Syndrom unter vielen Namen be-

kannt. Um die beschriebene Pathologie zu bezeichnen wird jedoch neuerdings der Terminus "Frühkindliche Karies" in der medizinischen Literatur verwendet.

Der kariöse Prozess wird durch das schnelle Voranschreiten, die Ausbreitung in die Breite (Glattflächenkaries), multiple Läsionen der Zähne in der Reihenfolge ihres Durchbruchs (ausgenommen der Schneidezähne im Unterkiefer) charakterisiert. Das seltene Auftreten von Läsionen an den Schneidezähnen des Unterkiefers kann bei der beschriebenen Pathologie mit der besseren Selbstreinigung (durch die Position der Zunge) sowie die ausgiebige Umspülung mit Speichel erklärt werden.

## WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011 | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

Bei der Behandlung von frühkindlicher Karies kann ein langanhaltender positiver Effekt nur durch den komplexen Einsatz medikamentöser und prophylaktischer Mittel und Prozeduren erzielt werden, die auf die Bekämpfung aller Verursacher der Ätiopathogenese der beschriebenen Erkrankung samt kariogener Mikroflora abzielen [5].

Um die Aktivität der kariogenen Mikroflora einzudämmen verwenden die Zahnärzte im Ausland in ihrer klinischen Praxis meistens Präparate auf Chlorhexidin-Basis sowie Jodide und ihre Kombinationen [15, 20, 28].

Ebenfalls ist bekannt, dass Xylitol eine antimikrobielle Wirkung auf die mächtigsten kariogenen Mikroorganismen wie den *Streptococcus mutans* haben kann. Die enzymatische Aufspaltung von Zucker dient der bakteriellen Zelle als Energiequelle. Im Laufe ihres Lebens absorbieren kariogene Mikroorganismen Xylitol. Doch verfügen sie nicht über die notwendigen Fermente um das Xylitol zu verarbeiten, was zu einer überschüssigen Anlagerung von Xylitol in der Zelle führt. Dadurch kann der Mikroorganismus absterben [7] oder es kommt zum Ausstoß von Xylitol zurück in die Mundhöhle. Bei letzterem, als Resultat dieses sog. Nullzyklus, nutzen die Mikroben ihre Energie für nichts, was sie sowohl in ihrer Entwicklung als auch Reproduktion hemmt [8, 21].

Hinzukommt, dass Xylitol die Haftung der kariogenen Mikroorganismen am harten Zahngewebe sowie die Bildung von Zahnbelag erschwert und somit zur besseren Hygiene der Mundhöhle beiträgt [2, 14, 24].

### GEGENSTAND DER UNTERSUCHUNG

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung ist der Vergleich der Effektivität antimikrobieller Präparate aus verschiedenen pharmakologischen Gruppen: Antiseptika (Chlorhexidin) und Zuckersubstitute (Xylitol); sowie der Vergleich ihres Einflusses auf die Zusammensetzung der Mikroflora des Zahnbiofilms.

### UNTERSUCHUNGSMATERIAL UND- METHODEN

30 Patienten im Alter von 12 bis 36 Monaten (18 Jungen und 12 Mädchen) mit frühkindlicher Karies sind im Laufe von einem Monat von uns untersucht worden. Die klinischen Untersuchungen ihrer Mundhöhlen sind nach einem Standard-Schema durchgeführt worden. Es wurden individuelle Krankenakten angefertigt. Ebenfalls sind die Werte DMFT (*kariöse, fehlende, gefüllte Zähne*) und DMFS (*kariöse, fehlende, gefüllte Zahnflächen*) ermittelt worden. Zur Beschreibung der hygienischen Zustände der Mundhöhlen ist der Index für die Bewertung von Zahnplaque in den Mundhöhlen von Kleinkindern (Kuz'mina E. M., 2000) angewandt worden. Zusätzlich ist eine visuelle Untersuchung durchgeführt worden, um das Vorkommen oder Fehlen von katarrhalischer Gingivitis festzustellen.

Keines der untersuchten Kinder klagte über Schmerzen. Gemäß den Indikationen ist den Kindern der untenstehende Komplex konservativer medikamentöser und prophylaktischer Prozeduren verschrieben worden:

1. Verbesserung des Hygienezustands der Mundhöhle.

## WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011 | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

2. Normalisierung von Charakter und Regime der Essgewohnheiten (Eliminierung des Faktors Kohlenhydrate).
3. Lokale antimikrobielle Therapie (zu Hause).
4. Lokale Remineralisierungstherapie mit begleitenden Präparaten mit Kalzium- und Phosphatgehalt (zu Hause).
5. Lokale Anwendung von Fluoriden ein Mal pro Monat (in der Zahnarztpraxis).
6. Versiegelung der Fissuren der Milchmolaren.
7. Allgemeine endogene Fluor-Prophylaxe (im Falle von Wohngebieten mit vermindertem Fluorgehalt im Trinkwasser).
8. Untersuchung durch Kinderarzt zur Ausschließung allgemeiner stomatologischer Pathologien und möglicher Hypokalzämie.
9. Überwachung durch spezialisierte Klinik.

Die Patienten wurden nach dem Zufallsprinzip in zwei Gruppen mit jeweils 15 jüngeren Kindern pro Gruppe aufgeteilt. Zur Ausführung der lokalen antimikrobiellen und remineralisierenden Therapie haben die Patienten der Gruppe 1 im Laufe eines Monats ein hochadhäsives Applikationsgel namens "R.O.C.S. Medical Minerals" benutzt, das Kalzium-Glyzerophosphat, Magnesium-Chlorid und Xylitol (10%) enthält. Die Patienten sollten, wie vorgeschrieben, das Remineralisierungs-Gel "R.O.C.S. Medical Minerals" 4-5 täglich nach der Zahnreinigung auftragen.

Der Gruppe 2 sind als lokale antimikrobielle und remineralisierende Therapie tägliche Anwendungen von einer 0,1% Chlorhexidin-Lösung für 1-2 Minuten im Laufe von 7-10 Tagen ver-

schrieben worden. Als Remineralisierungstherapie ist einen Monat lang das Gel "Belagel Ca/P" eingesetzt worden. Den Patienten wurde empfohlen dieses remineralisierende Gel nach dem Zähneputzen 4-5 Mal täglich aufzutragen.

Alle beschriebenen Vorgänge sind nach Erhalt der einleitenden Instruktionen von den Eltern der Patienten bei sich zu Hause durchgeführt worden.

Sowohl am Anfang als auch am Ende des vorgeschriebenen Behandlungszeitraumes wurden bei allen Patienten bakteriologische Kontrollen und molekular-biologische Untersuchungen durchgeführt. Die Multiplex-Polymerase-Kettenreaktion ist in dem Labor für molekular-biologische Untersuchungen des Medizinischen Forschungsinstituts für Zahnheilkunde (RMIS) durchgeführt worden.

Zur Durchführung bakteriologischer Tests entnahmen wir etwas Substanz aus dem Zahnbelag auf der vestibulären Fläche der mittleren oberen Schneidezähne (vor der Anwendung chemotherapeutischer Präparate oder spezieller hygienischer Behandlungen).

Die Substanz aus dem Zahnbelag wurde am Morgen vor der Zahnreinigungsprozedur entnommen. Die Entnahme erfolgte mittels einer sterilen endodontischen Papierspitze in Standardgröße (№30), welche dann für den weiteren Transport in einem halbfüssigen Stuart Nährmedium platziert wurde. Vor dem Transport wurde das Transportsystem bei einer Temperatur von 2-4°C gelagert. Während des einstündigen Transits befand sich das System im gekühlten Zustand. Die darauffolgenden bakteriologischen Untersuchungen wurden

## WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011 | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

gemäß den allgemein anerkannten Vorschriften zur klinischen anaeroben Mikrobiologie durchgeführt.

Danach erfolgte eine quantitative sektorale Inokulation von Kulturmedien. Benannte Medien waren explizit für die Kultivierung von Streptokokken und anderen Bakterien der Mundhöhle in aeroben und anaeroben Bedingungen vorgesehen.

Reine Kulturen der obligat aeroben Bakterien und fakultativ anaeroben Bakterien in einer anaeroben Umgebung wurden durch die Verwendung von 5% Blutagar mit Hämin hergestellt, welches auf der Basis von Hirn-Herz-Medium (Difco) mit Zugabe von Hämin (5 Mikrogramm/ml) und Menadion (0,1 Mikrogramm /ml) hergestellt worden ist. Die Inokulationen wurden in anaeroben Apparaten mit sauerstofffreiem Gas (welches sich aus 80% Nitrogen, 10% Hydrogen und zu 10% aus Kohlenstoffdioxid zusammensetzte) platziert. Zur Reduzierung von Sauerstoffresten ist ein Palladium-Katalysator eingesetzt worden.

Die Resultate der quantitativen Untersuchung sind in Form von Koloniebildungseinheiten (CFU /ml) dargestellt worden.

Die isolierten Bakterienkolonien in der aeroben Umgebung wurden wie folgt erhalten:

- 5% Blutagar auf der Grundlage von Hirn-Herz-Medium,
- selektiv differentieller Mitis Salivarius Agar,
- chromogenes Medium M1353 von Himedia,
- chromogenes Medium von Himedia zur Differenzierung von Fungi.

Reine Bakterienkulturen wurden nach der Identifizierung der erhaltenen isolierten Kolonien und der Kalkulation ihrer Quantität auf dem schrägen Hirn-Herz-Agar oder dem halbflüssigen Medium AC erhalten. Die Kultivierung in der anaeroben Umgebung dauerte sieben Tage lang, die Kultivierung unter aeroben Bedingungen hingegen nur etwa drei Tage lang. Die Art der erhaltenen Bakterien wurde mit Hilfe aller morphologischen, kulturellen und biochemischen Merkmale identifiziert.

Die Probenentnahme für die PCR-Diagnose von Periodontitis wurde im Einklang mit den von Tsarev V.N. und einem Co-Author (2002) ausgesprochenen methodologischen Empfehlungen durchgeführt. Diese Empfehlungen werden ebenfalls zur Identifizierung der extrahierten Kulturen der fermentproduzierenden Bacteroides und Actinobacilli angewandt.

Für die DNS-Extraktion wurde die Probe mit Hilfe eines Sets von Reagenzien zur DNS-Extraktion aus klinischem Material präpariert. Das Reagenzien-Set ist von "GenLab" Ltd. (Russische Föderation) zur Verfügung gestellt worden. Es hatte folgende Zusammenstellung:

- «Extragen» – eine Suspension aus einem Gemisch ionentauschender Granalien (1 Flasche, 10 ml);
- «Enzymix», proteolytischer Komplex (1 Test-Tube mit lyophilisiertem Inhalt);
- «Enzymix» Lösemittel (1 Test-Tube, 100 mcl).

Die weitere Extraktion und Ermittlung der DNS der periodontopathogenen Bakterien wurde nach der medizinischen Technologie FS-2006 /043-U durchgeführt, die an der Abteilung für

## WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011 | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

Mikrobiologie, Virologie und Immunologie der MSMSU (Moskauer Staatliche Medizinische Stomatologische Universität) entwickelt wurde.

### UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE. ERÖRTERUNG DER ERHALTENEN ERGEBNISSE.

Während der klinischen Untersuchung der Mundhöhle bei den Patienten der Gruppe 1a ist eine hochgradige Kariesintensität auf den Milchzähnen festgestellt worden: der durchschnittliche DMFT-Wert lag bei  $5,9 \pm 1,4$ , der durchschnittliche DMFS-Wert bei  $12,9 \pm 3,1$ . Die Hygiene der Mundhöhle ist als mangelhaft eingestuft worden: der Mittelwert des Bewertungsindex für frühkindliche Zahnplaque (Kuz'mina E.M., 2000) lag bei  $0,75 \pm 0,09$ . 73,3% der Patienten zeigten Folgen katarrhalischer Gingivitis. Hyperämie und ödematöses Zahnfleisch am Alveolarknochen wurden bei 53,3% der Patienten gefunden. Während der ersten Untersuchung der mikrobiellen Flora des Zahnbelags der Patienten der Gruppe 1 ist ein hoher

Grad der mikrobiellen Kontaminierung (Wachstumsdichte) sowohl residenter als auch aggressiver kariogener und periodontopathogener Gruppen festgestellt worden (Tabelle 1).

*Streptococcus mutans*, der grundlegende kariogene Typ, wurde bei 73,3% der Patienten gefunden und der dezimale Logarithmus der Kontaminierungsrate betrug  $5,45 \pm 0,25$  (ca. 105 CFU/ml). Der Grad der Kontaminierung mit *Streptococcus sanguis*, einem anderen kariogenen Typ, war ebenfalls hoch. Er betrug  $7,15 \pm 0,26$ . Mit anderen Worten, ca. 107 CFU/ml mit einer Extraktionsfrequenz von 100% der Patienten (Abbildung 3). Vertreter der *Actinomyces* spp., welche sich ebenso durch die ausgeprägte Fähigkeit Säure zu produzieren und sich an den Zahnschmelz zu heften auszeichnen, wurden bei 60% der Patienten gefunden. Ihre Anzahl war temperiert und betrug  $4,67 \pm 0,23$  (ca. 105 CFU/ml).

Die biochemische Identifizierung der reinen Kulturen anaerober Bakterien, Streptokokken und gramnegativer Bakterien wurde mit Testsystemen der Firmen API (Frankreich) und Roche (Deutschland) durchgeführt.

Die Auswertung der Resultate basierte auf den Normen der Wachstumsdichte.

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurde mit dem "Multi-Dent" Test-Paket ("GenLab»Ltd., Russische Föderation) durchgeführt um die fünf Haupttypen der periodontopathogenen Bakterien sicherzustellen (multiplex PCR): *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* und *Treponema denticola*.

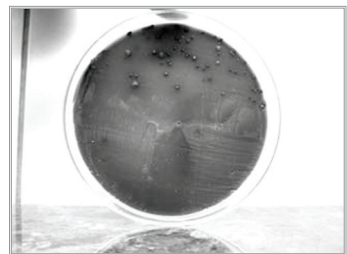


Abb. 3. Kolonien kariogener alpha-hämolytischer Streptokokken *S. mutans* (groß) und *S. sanguis* (klein) aus dem Zahnbelag eines Kleinkindes in Inokulation auf 5% Blut-Agar mit Hämoglobin.

## WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011 | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

Allerdings war die Kontaminierung des Zahnbelags mit *Veillonella parvula* im Vergleich zu den Vertretern der kariogenen Typen gering. Die Wachstumsdichte von *Veillonella parvula* betrug  $4,20 \pm 0,09$  und wurde bei 33,3% der untersuchten Kleinkinder gefunden.

Es ist bekannt, dass *Veillonella parvula* einen besonderen Platz unter den metabolischen Antagonisten der kariogenen Typen einnimmt, da es Säuren nutzen und neutralisieren kann. Dies erlaubt es *Veillonella parvula* als einen der führenden mikrobiellen Faktoren einer Karies-Resistenz zu betrachten [11, 16].

Andere residente Bakterienspezies spielen ebenfalls eine Rolle beim Erschweren der Kolonisierung kariogener Streptokokken, doch

ist ihre Rolle weniger bedeutend. Während der Untersuchung der Patienten der 1. Gruppe wurde festgestellt, dass der Grad der Kontaminierung mit anderen residenten Bakterienspezies zwischen 104 und 105 CFU/ml schwankte. Benannte Bakterienspezies wurden bei 46,7-60,0% der untersuchten Patienten gefunden.

Das beschriebene mikrobiologische Muster der Patienten aus Gruppe 1 scheint mit der Entwicklung des kariösen Prozesses übereinzustimmen. Der Fund der bakterientragenden Eigenschaften der Vertreter der anaeroben Bakterien der periodontopathogenen Spezies war von besonderem Interesse (Tabelle 2).

Bei der Mehrheit der Patienten konnten gleichzeitig zwei bis drei periodontopathogene Spe-

Tabelle 1. Zusammensetzung der kariogenen und residenten mikrobiellen Floren des Zahnbelags vor und nach der Anwendung von remineralisierendem Gel mit Xylitol (n=15)\*R.O.C.S. Medical Minerals<sup>®</sup>

Gattung, Spezies der Bakterien	Hintergrund		Nach medikamentöser Behandlung		P
	M + m lg CFU	I	M + m lg CFU	I	
<i>Streptococcus mutans</i>	$5,45 \pm 0,25$	73,3	$4,45 \pm 0,20^*$	40,0	< 0,05
<i>Streptococcus sanguis</i>	$7,15 \pm 0,26$	100,0	$6,52 \pm 0,21^*$	100,0	< 0,05
<i>S.salivarius</i>	$4,67 \pm 0,18$	60,0	$4,38 \pm 0,24$	53,3	< 0,05
<i>Enterococcus spp.</i>	$5,92 \pm 0,19$	60,0	$5,53 \pm 0,14$	86,7**	< 0,05
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	$5,14 \pm 0,14$	46,7	$5,29 \pm 0,28$	46,7	< 0,05
<i>Actinomyces spp.</i>	$4,67 \pm 0,23$	60,0	5,00	33,3*	< 0,05
<i>Veillonella parvula</i>	$4,20 \pm 0,09$	33,3	$4,00 \pm 0,12$	46,7**	< 0,05

\*die Werte sind bedeutend geringer als die Vergleichswerte vor der medikamentösen Behandlung

\*\*die Werte sind bedeutend höher als die Vergleichswerte vor der medikamentösen Behandlung



## WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011 | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

zies extrahiert werden. Ihre Quantität betrug 105...106 CFU/ml, was einem Logarithmus von 5,0-6,0 entspricht (oder dem diagnostischen Level der Polymerase-Kettenreaktion bei der Mehrheit der periodontopathogenen Spezies).

Die Extraktionsfrequenz von *Porphyromonas gingivalis*, einer bedeutenden periodontopathogenen Spezies, erschien am auffälligsten. Sie betrug 40,0%. Die Extraktionsfrequenz von *Prevotella melaninogenica*, einer virulenten anaeroben Spezies, lag ebenso bei auffälligen 60%. Eine Vielzahl anderer periodontopathogener und virulenter Spezies, z.B. *Fusobacterium* spp. und *Klebsiella* spp., sind bei jeweils 20% und 13,3% der Patienten gefunden worden.

Relativ häufig, bei ca. 20% der Patienten, sind in großen Mengen Vertreter der hefeähnlichen Pilze *Candida albicans* extrahiert worden (4,77 ± 0,37).

Als Resultat der klinischen Untersuchung ist ein hoher Intensitätsgrad von Milchzahnkaries in den Mundhöhlen der Patienten der Gruppe 2 festgestellt worden: der durchschnittliche DMFT-Wert betrug 6,5 ± 1,5 und der durchschnittliche DMFS-Wert 14,2 ± 3,3. Der Hygienzustand der Mundhöhle ist als schlecht eingestuft worden: der durchschnittliche Wert des Index zur Bewertung von Zahnablagerung bei Kleinkindern (Kuz'mina E.M., 2000) betrug 0,78 ± 0,1. 66,7% der Patienten waren von katarhalischer Gingivitis betroffen und 46,7%

Tabelle 2. Zusammensetzung der virulenten mikrobiellen Flora des Zahnbelags vor und nach der medikamentösen Behandlung mit remineralisierendem Gel mit Xylitol (n=15) "R.O.C.S. Medical Minerals"

Gattung, Spezies der Bakterien	Hintergrund		Nach medikamentöser Behandlung		P
	M + m lg CFU	I	M + m lg CFU	I	
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	Nicht ermittelt	0	Nicht ermittelt	0	-
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	5,45 ± 0,29	40,0	5,78 ± 0,25	40,0	< 0,05
<i>Prevotella melaninogenica</i>	4,44 ± 0,23	60,0	5,40 ± 0,11**	33,3*	< 0,05
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	5,33 ± 0,12	20,0	4,50 ± 0,14*	13,3*	< 0,05
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nicht ermittelt	0	4,00	6,7	< 0,05
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4,50 ± 0,14	13,3	4,20 ± 0,09	33,3*	< 0,05
<i>Candida albicans</i>	4,77 ± 0,37	20,0	Nicht ermittelt*	0**	< 0,05

\*die Werte sind bedeutend geringer als die Vergleichswerte vor der medikamentösen Behandlung

\*\*die Werte sind bedeutend höher als die Vergleichswerte vor der medikamentösen Behandlung

## WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011 | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

von ihnen hatten Hyperämie und ödematöses Zahnfleisch am Alveolarknochen.

Die erste Analyse der Extraktionsfrequenz der wichtigsten kariogenen Vertreter sowie die erste Untersuchung des Kontaminationsgrades des Zahnbelags der Patienten in Gruppe 2, die danach 0,1% Chlorhexidin Lösung anwandten, erlaubte die Erhebung folgender Daten, zu sehen in Tabelle 3.

*Streptococcus mutans*, ein bedeutender kariogener Typ, wurde bei 2/3 der Patienten (66,7%) gefunden und die Wachstumsdichte betrug im allgemeinen Logarithmus ausgedrückt  $5,50 \pm 0,32$  (mit anderen Worten von 105 bis 106 CFU/ml). Der Kontaminierungsgrad mit *Streptococcus sanguis*, einer anderen kariogenen Spezies, war noch höher und lag bei  $6,97 \pm 0,21$  (ca. 107

CFU/ml). Dieser wurde bei 100% der Patienten ermittelt. Durch die Fähigkeit stark am Zahnschmelz zu haften und die ausgeprägte Fähigkeit der Säureproduktion wurden moderate Mengen von *Actinomyces* spp.,  $5,14 \pm 0,24$  (ca. 105 CFU/ml), bei 60% der Patienten extrahiert.

Damit unterschied sich die Extraktionsfrequenz der wichtigen kariogenen Spezies bei den Patienten der 2. Gruppe von denen der 1. Gruppe. Trotzdem waren die allgemeinen Eigenschaften des hohen Kolonisierungsgrades bei beiden verglichenen Gruppen identisch.

Was die antagonistische Flora angeht, war der Verbreitungsgrad von *Veillonella parvula* im Zahnbelag der Patienten aus der Gruppe 1 und Gruppe 2 niedriger als der Verbreitungsgrad der kariogenen Spezies. Er betrug  $4,50 \pm 0,24$  und

Tabelle 3. Zusammensetzung der kariogenen und residenten mikrobiellen Floren des Zahnbelags vor und nach der lokalen Anwendung von 0,1% Chlorhexidin-Lösung (n=15)

Gattung, Spezies der Bakterien	Hintergrund		Nach medikamentöser Behandlung		P
	M + m lg CFU	I	M + m lg CFU	I	
<i>Streptococcus mutans</i>	$5,50 \pm 0,32$	66,7	$4,90 \pm 0,26^*$	66,7	< 0,05
<i>Streptococcus sanguis</i>	$6,97 \pm 0,21$	100,0	$6,33 \pm 0,29^*$	100,0	< 0,05
<i>S.salivarius</i>	$5,50 \pm 0,11$	40,0	$5,52 \pm 0,24$	53,3	> 0,05
<i>Enterococcus</i> spp.	$6,33 \pm 0,09$	46,7	$6,08 \pm 0,15$	26,7**	< 0,05
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	$4,96 \pm 0,25$	46,7	$4,60 \pm 0,42$	33,3*	< 0,05
<i>Actinomyces</i> spp.	$5,14 \pm 0,24$	60,0	$5,83 \pm 0,08^{**}$	40,0*	< 0,05
<i>Veillonella parvula</i>	$4,50 \pm 0,26$	26,7	$4,60 \pm 0,23$	33,3	> 0,05

\*die Werte sind bedeutend geringer als die Vergleichswerte vor der medikamentösen Behandlung

\*\*die Werte sind bedeutend höher als die Vergleichswerte vor der medikamentösen Behandlung

## WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011 | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

die Vertreter der Art *Veillonella* sind bei ca. 1/4 der Patienten (26,7%) gefunden worden.

Die Extraktionsfrequenz sowie die Quantität anderer residenter Spezies, die ebenfalls zu einer erschwerten Kolonisierung kariogener Streptokokken beitragen, glich den Werten der 1. Gruppe.

Bei den Patienten der beschriebenen Gruppe schwankte der Verbreitungsgrad dieser bakteriellen Spezies von 105 bis 106 CFU/ml mit einer Ermittlungsfrequenz von 40-46,7%. Diese Information stimmt mit der einschlägigen Literatur überein, welche aussagt, dass bei Menschen, die als nahezu gesund gelten, die ermittelte Anzahl der Vertreter benannter residenter Gruppe eine Anzahl von 104...106 CFU/ml mit einer

Ermittlungsfrequenz von 50-60% nicht übersteigt. Eben diese Spezies sind in der Lage die Formierung einer normalen Mikrobiözönose in der Mundhöhle zu stabilisieren [3, 12].

Sehr wahrscheinlich ist die beschriebene mikrobiologische Situation ein wichtiger Faktor bei die Entwicklung und Unterstützung von Zahnkaries. Das auftretende Ungleichgewicht in der Zusammensetzung der Normflora, die durch einen starken Anstieg der Kolonisierung säureproduzierender Streptokokken charakterisiert wird, begünstigt in 46,7% der Fälle – im Zusammenspiel mit *Streptococcus mutans*, *Actinomycetes* und einer geringen Menge antagonistischer Flora (*Veillonella*) das Vorschreiten der Zahnschmelzdemineralisation und die Entwicklung von Karies.

Tabelle 4. Zusammensetzung der virulenten mikrobiellen Flora des Zahnbelags vor und nach der medikamentösen Behandlung mit lokaler Anwendung von 0,1% Chlorhexidin Lösung (n=15)

Gattung, Spezies der Bakterien	Hintergrund		Nach medikamentöser Behandlung		P
	M + m lg CFU	I	M + m lg CFU	I	
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	Kein Fund	0	Kein Fund	0	-
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	6,73 ± 0,05	20,0	6,48*	6,7*	< 0,05
<i>Prevotella melaninogenica</i>	5,12 ± 0,19	33,3	4,65 ± 0,21**	40,0	< 0,05
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	7,00	6,7	5,00 ± 0,14*	33,3*	< 0,05
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nicht ermittelt	0	Nicht ermittelt*	0	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4,50 ± 0,14	13,3	4,50 ± 0,43	13,3	>0,05
<i>Candida albicans</i>	5,50 ± 0,12	26,7	5,83 ± 0,08**	40,0**	< 0,05

\*die Werte sind bedeutend geringer als die Vergleichswerte vor der medikamentösen Behandlung

\*\*die Werte sind bedeutend höher als die Vergleichswerte vor der medikamentösen Behandlung

**WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011** | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

Patienten der Gruppe 2 wurden auf die bakterientragenden Eigenschaften der Vertreter der periodontopathogenen Spezies der anaeroben Bakterien untersucht (Tabelle 4).

Ähnlich wie bei Gruppe 1 haben wir zeitgleich

zwei bis drei Spezies periodontopathogener Bakterien bei den Patienten der Gruppe 2 extrahieren können. Die Quantität dieser Bakterien betrug 104...105 CFU/ml was einem Logarithmus von 4-5,0 entspricht (oder dem

Bei den erneuten Untersuchungen der Mikroflora im Zahnbelag von Patienten der Gruppe 1, die nach dem Anwendungskurs von remineralisierendem Gel mit Xylitol "R.O.C.S. Medical Minerals" durchgeführt wurden, beobachteten wir folgende Situation (Tabelle 1, 2).

Merklicher Rückgang der Kolonisierung kariogener Spezies – Streptococcus mutans (von 5,45 auf 4,45 lg CFU/ml), Streptococcus sanguis (von 7,15 auf 6,52 lg CFU/ml). Die Quantität von Actinomyces spp. blieb fast unverändert doch fiel die Extraktionsfrequenz von 60% auf 33,3%, obwohl auch diese Frequenz noch bedenklich ist (Abbildung 4).

Gleichzeitig ist bei 46,7% der Patienten eine Neuentwicklung der Veillonella parvula Population beobachtet worden, was als bedeutende Tendenz zu einer verbesserten Kariesresistenz gedeutet werden kann [12, 16].



Abb. 4. Rückgang der Wachstumsdichte von Streptococcus mutans bei Patienten nach Anwendung von remineralisierendem Gel mit Xylitolgehalt "R.O.C.S. Medical Minerals": Schale 1 (vor Behandlung) - 106, Schale 2 (sofort nach Beginn der medikamentösen Behandlung) - 104, Schale 3 (eine Woche nach Abschluss der medikamentösen Behandlung) - 103 CFU

Somit bestätigen die erhobenen Daten einen positiven Effekt des remineralisierenden Gels mit Xylitolgehalt "R.O.C.S. Medical Minerals" auf die Korrelation der kariogenen und residenten Bakterienspezies. Genauer gesagt wird diese Korrelation durch den Rückgang der Wachstumsdichte, einer geringeren Extraktionsrate von Streptococcus mutans (von 73,3% auf 40%) und einer Neuentwicklung der Veillonella Bakterienpopulation als wichtigsten Antagonist der kariogenen Flora bezeichnet (Abbildung 5).

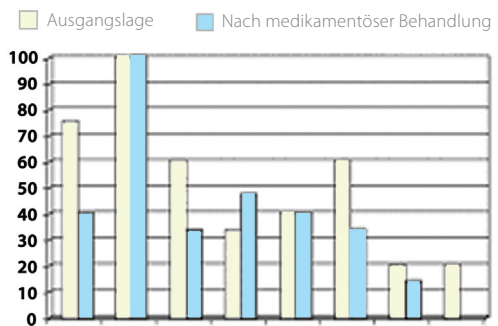


Abb. 5. Veränderung der Extraktionsfrequenz der Zahnsteinmikroflora vor und nach Anwendung des remineralisierenden Gels mit Xylitolgehalt "R.O.C.S. Medical Minerals"

## WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011 | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

diagnostischen Level von PCR für die Mehrheit der periodontopathogenen Spezies).

Die Ermittlungsfrequenz von *Prevotella melaninogenica*, einem Vertreter des virulenten anaeroben Typs, war die bislang höchste und betrug 33,3%. Die Vertreter von *Porphyromonas gingivalis*, der grundlegenden periodontopathogenen Spezies, wurden weniger häufig ermittelt (bei 20,0% der Patienten). Andere periodontopathogene und virulente Spezies wie *Fusobacterium* spp., *Klebsiella* spp., konnten in kleinen Mengen von jeweils 6,7% und 13,3% extrahiert werden. Die Ermittlungsquantität ( $5,50 \pm 0,12$ ) und -Frequenz der des Fungus der Gattung *Candida* waren sehr auffällig.

Im Laufe der klinischen Untersuchung der Mundhöhlen der Patienten der Gruppe 1, welche 1 Monat nach Beendigung des verschriebenen Komplexes konservativer medikamentöser und prophylaktischer Prozeduren durchgeführt wurde, sind keine neuen kariösen Hohlräume oder demineralisierte Herde gefunden worden.

Die vorhandenen kreideähnlichen Stellen bekamen wieder eine glänzende Oberfläche. Das Gleiten der Sonde war ebenfalls ein positives Symptom. Das Verschwinden der Symptome katarrhalischer Gingivitis und eine zufriedenstellende Hygiene der Mundhöhlen aller untersuchten Patienten (der Durchschnittswert des Index für die Bewertung der Mundhygiene von Kleinkindern (Kuz'mina E.M., 2000) betrug  $0,38 \pm 0,07$ ) zählen zu den weiteren positiven Veränderungen. Zusätzlich beobachteten wir, dass sich kariöse Defekte nicht weiterentwickelt haben. Das befallene harte Gewebe wurde fester und grenzte sich von dem gesundem Gewebe ab. Mit anderen Worten war Entwicklung der Karies von eher kompensierter Natur.

Ebenfalls nennenswert ist die Tatsache, dass nach einer einmonatigen Anwendung des remineralisierenden Gels mit Xylitol "R.O.C.S. Medical Minerals" ein Rückgang in der Ermittlungsfrequenz von *Prevotella melaninogenica*, einer der wichtigsten virulenten anaeroben Spezies, festgestellt worden ist (der Durchschnittswert

Tabelle 5. Vergleichende Bewertung der Veränderungen in der Extraktionsfrequenz der Zahnbelagmikroflora nach der Anwendung von 0,1% Chlorhexidin und dem remineralisierendem Gel mit Xylitol (10%) "R.O.C.S. Medical Minerals"

Gattung, Spezies der Bakterien	0,1% Chlorhexidin	R.O.C.S. Medical Minerals mit Xylitol
<i>Streptococcus mutans</i>	keine Veränderung	45,5% Rückgang
<i>Actinomyces</i> spp.	33,3% Rückgang	44,5% Rückgang
<i>Veillonella parvula</i>	24,7% Anstieg	40,2% Anstieg
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	66,5% Rückgang	keine Veränderung
<i>Prevotella melaninogenica</i>	20% Anstieg	44,5% Rückgang
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	4,8-facher Anstieg	33,5% Rückgang
<i>Candida albicans</i>	49,8% Anstieg	komplett verschwunden

**WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011** | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

der Wachstumsdichte ist allerdings nicht gesunken). Ebenfalls fand ein Rückgang in der Ermittlungsfrequenz und dem Verbreitungsgrad von *Fusobacterium nucleatum*, einer anderen anaeroben Spezies, statt. Der Grad der Kontamination mit *Porphyromonas gingivalis* und die Ermittlungsfrequenz dieser periodontopathogenen Spezies blieben unverändert (40,0%).

Das Verschwinden von Pilzen der Gattung *Candida* muss zweifelsfrei als äußerst wichtige positive Eigenschaft in der Veränderung der Zusammensetzung der Mikrobiözönose des Zahnbiofilms verstanden werden.

Die erhobenen Daten geben Anlass zu der Schlussfolgerung, dass die Bestandteile von dem remineralisierenden Gel R.O.C.S. Medical Minerals einen positiven Einfluss auf die Zusammensetzung der Mikrobiözönose des Zahnbiofilms haben. Sie sind in der Lage die qualitative Zusammensetzung (an Spezies) und

die quantitative Kontaminierung mit Bakterien der kariogenen und stabilisierenden residenten Typen zu normalisieren. Darüber hinaus ist während der Anwendung des verschriebenen Komplexes der Pilz der Gattung *Candida* aus dem Zahnbiofilm vollständig verschwunden. Ebenfalls konnte der Rückgang der Ermittlungsquantität- und -Frequenz bestimmter Vertreter der periodontopathogener Spezies anaerober Bakterien beobachtet werden (Tabelle 5). Leider ist die vollständige Entfernung dieser Bakterien aus dem Zahnbelag unmöglich. [9, 10, 17].

Bei der klinischen Untersuchung der Mundhöhlen der Patienten aus der Gruppe 2 einen Monat nach der Verschreibung des notwendigen Behandlungskurses beobachteten wir das Fehlen neuer Kariesherde und demineralisierter Flächen. Die Symptome katarrhalischer Gingivitis verschwanden bei 80% der Patienten (inklusive derer, die bereits vor den Untersuchungen an katarrhalischer Gingivitis litten). Der Zustand

Die ermittelten Ergebnisse erlauben die Feststellung, dass Chlorhexidin, angewandt wie im Rahmen dieser Untersuchung, nur einen schwachen Einfluss auf die Korrelation kariogener und residenter Mikroflora in den Mundhöhlen von Patienten mit Zahnkaries hat. Wir beobachteten eine unbedeutende Tendenz im Rückgang der Kontaminierungswerte der kariogenen Spezies Streptokokken und Actinomyceten, während die Ermittlungsfrequenz der grundlegenden Streptokokkenspezies praktisch unverändert geblieben ist (Abbildung 6).

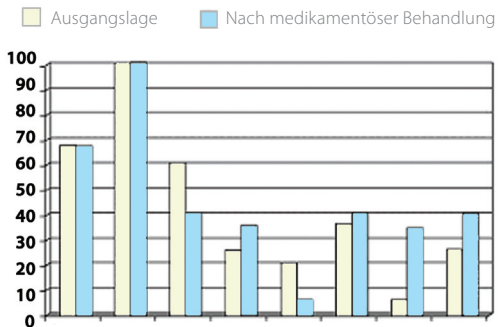


Abb. 6. Veränderung der Extraktionsfrequenz der Zahnsteinmikroflora vor und nach Anwendung von 0,1% Chlorhexidine

**WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011** | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

der Mundhygiene war bei 73,3% der Patienten befriedigend (der Mittelwert des Index zur Bewertung des Hygienezustands der Mundhöhlen von Kleinkindern (Kuz'mina E.M., 2000) betrug  $0,45 \pm 0,09$ ).

Bei der Untersuchung der mikrobiellen Flora des Zahnbelags der Patienten aus der Gruppe 2 einen Monat nach dem ihnen die notwendige Behandlung verschrieben worden ist, konnten wir nur geringfügige positive Entwicklungen in der Korrelation kariogener und normaler Flora beobachten: die Durchschnittswerte der Verbreitung von Vertretern der Gattung *Streptococcus mutans* sind zwar zurückgegangen, doch nur in unbedeutendem Masse ( $4,90 \pm 0,26$ ), während die Ermittlungsfrequenz nicht zurückgegangen und weiterhin hoch geblieben ist (66,7%). Die Quantität von *Streptococcus sanguis*, einer weiteren kariogenen Spezies, hat sich im Zahnbiofilm ebenfalls verringert, doch konnte sie weiterhin bei allen untersuchten Patienten gefunden werden (die Ermittlungsfrequenz der *Streptococcus sanguis* blieb bei 100%). Die quantitativen Werte der Kolonialisierung von Actinomyceten blieben unverändert doch haben wir einen Rückgang in der Ermittlungsfrequenz von 60% auf 40% feststellen können (Tabelle 3).

Keine Änderungen ergaben sich bei den Kolonialisierungswerten residenter Spezies, auch bei *Veillonella*, während die Anzahl von Enterokokken und ihre Ermittlungsfrequenz merklich gesunken sind (von 46,7% auf 26,7%).

Gleichzeitig gab es einen Rückgang in der Ermittlungsquantität und -Frequenz von Enterokokken, den bakteriellen Vertretern der resi-

denten Bakteriengruppe. Eine Neuentwicklung der *Veillonella*-Population, den Antagonisten der säureproduzierenden Flora der Mikroorganismen, fand nicht statt.

Somit kann auf der Grundlage der angeführten Daten die Aussage getroffen werden, dass andere Mechanismen der Kariesresistenz auftreten als bei einer lokalen Anwendung von dem remineralisierenden Gel mit Xylitol „R.O.C.S. Medical Minerals“. Unserer Ansicht nach ist die Wirkung dieses remineralisierenden Gels physiologischer, was die Regulierung des Gleichgewichts kariogener und residenter Floren in der Mundhöhle des Patienten angeht.

Die lokale Anwendung der Chlorhexidin-Lösung beeinflusste die Zusammensetzung der virulenten Mikroflora folgendermaßen: die Ermittlungsfrequenz von *Porphyromonas gingivalis* ging dreifach zurück, die Durchschnittsmenge von *Prevotella melaninogenica* ging ebenfalls zurück (Tabelle 4), jedoch stieg die Extraktionsfrequenz von *Fusobacterium nucleatum* (von 6,7% auf 33,3%) aus dem Zahnbiofilm. Die Tatsache, dass die Ermittlungsfrequenz des hefeähnlichen Pilzes *Candida albicans* von 26,7% auf 40,0% angestiegen ist (Tabelle 5) war ebenfalls auffällig. Gleichzeitig konnte ein starker Anstieg der Kontamination des Zahnbelags mit Fungi (up to  $5,83 \pm 0,08$  lg CFU/ml) beobachtet werden. Diese Angaben bestätigen die Entwicklung einer Dysbakterie bei der Anwendung von Chlorhexidin.

**SCHLUSSFOLGERUNGEN**

1. Die Anwendung eines Komplexes aus medikamentösen und prophylaktischen Prozeduren, die alle ätiopathogenetischen Faktoren

**WISSENSCHAFTLICHE ÜBERSICHT 2011** | Beilage zur Zeitschrift "Prophylaxis Today", 2011

des Ursprungs von Zahnkaries bei Kleinkindern beeinflussen, garantiert eine Stabilisierung der fortschreitenden Entwicklung in einer relativ kurzen Zeit.

2. Der Zusatz von Xylitol und Chlorhexidin als antimikrobielle Wirkmittel in dem Gesamtschema der Behandlung von frühkindlicher Karies führt zu einer geringeren Extraktionsfrequenz sowie zu einem Abfall des Kontaminierungsgrades kariogener und periodontopathogener Flora im Zahnbelag.
3. Die Anwendung einer 0,1% Chlorhexidin-Lösung hat eine gröbere und unphysiologische Wirkung auf die Zusammensetzung der Mikrobiozönose des dentalen Biofilms im Vergleich zum remineralisierenden Gel mit Xylitol "R.O.C.S. Medical Minerals".
4. Das Zusammenspiel der antimikrobiellen und remineralisierenden Wirkung bei der Anwendung von "R.O.C.S. Medical Minerals" ermöglicht die Reduktion der in unserem Heilplan vorgeschlagenen notwendigen Behandlungen. Das vereinfacht die Behandlung von Kleinkindern.