Aus dem Medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

Geschäftsführender Direktor: Prof Dr. R. Frankenberger

des Fachbereichs Medizin an der Philipps-Universität Marburg

Einfluss von verschiedenen Lagerungsmedien auf Biolumineszenzmessungen –eine In-vitro-Studie

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin

dem Fachbereich Medizin

der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Daniel Davidoff

aus Hannover

Marburg, 2024

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am:
10.12.2024

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan:	Prof. Dr. Denise Hilfiker-Kleiner
Referent:	Frau Prof. Dr. Anahita Jablonski-Momeni
1. Koreferent:	Herr Prof. Dr. Ulrich Lotzmann

Meinen Eltern, meiner Ehefrau und meinem Sohn gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung **1**
2 Literaturübersicht **3**
2.1 Ätiologie der Karies 3
2.2 Visuell-taktile Methoden der Kariesdiagnostik 4
2.2.1 ICDAS-Klassifikation 5
2.2.2 Nyvad-Kriterien 7
2.3 CALCIVIS® Caries Activity Imaging System 9
2.4 Lagerung extrahierter Zähne 13
2.5 Einfluss von Lagerungsmedien 13
3 Zielsetzung und Fragestellung **17**
4 Material und Methode **19**
4.1 Versuchsdesign 19
4.2 Auswahl und Vorbereitung 19
4.3 Visuelle Befundung 21
4.4 Untersuchung durch CALCIVIS 21
4.5 Erfassung der Daten und statistische Auswertung 30
4.5.1 Shapiro-Wilk-Test 30
4.5.2 Spearman´s Rangkorrelationskoeffizient 30
4.5.3 Kruskal-Wallis-Test 30
4.5.4 Friedman-Test 31
4.5.5 Kreuztabellen 31
4.5.6 McNemar (Chi-Quadrat) 31
4.5.7 Box-Plot 31
5 Ergebnisse **33**
5.1 Visuelle Befundung 33
5.2 Spearman‘s Rangkorrelationskoeffizient 35
5.3 Vergleich der Lagerungsgruppen zum gleichen Messzeitpunkt 36
5.4 Vergleich der Pixelwerte der einzelnen Lagerungsmedien im Zeitverlauf 37
5.5 Zusammenfassung der Ergebnisse im Zeitverlauf 39
5.6 Zusammenfassung der Hypothesen 40
6 Diskussion. **41**
6.1 Diskussion der Problemstellung 41
6.2 Diskussion von Material und Methode 42

6.2.1 Auswahl und Lagerung 42
6.2.2 Visuelle Untersuchung 43
6.2.3 Biolumineszenzmessung mit CALCIVIS 44
6.2.4 Studiendesign 45
6.3 Diskussion der Ergebnisse 45
6.3.1 Korrelation der Biolumineszenzmessung mit den ICDAS-Befunden 45
6.3.2 Ergebnisse aus den Gruppen- und Zeitverlaufsvergleichen 47
6.4 Schlussfolgerung und Relevanz für zukünftige Studien 48
7 Zusammenfassung 50
7.1 Zusammenfassung auf Deutsch 50
7.2 Zusammenfassung auf Englisch 52
8 Literaturverzeichnis 54
9 Abbildungsverzeichnis 63
10 Tabellenverzeichnis 64
11 Abkürzungsverzeichnis 65
12 Materialliste 67
13 Lebenslauf 68
14 Verzeichnis akademischer Lehrer 69
15 Danksagung 70
16 Ehrenwörtliche Erklärung 71

1 Einleitung

Eine der weltweit am häufigsten auftretende Erkrankungen ist auch im 21. Jahrhundert die Zahnkaries [Kassebaum et al. 2015]. Seit 1997 kann aber ein Rückgang der Karieserfahrung vor allem bei 12-jährigen Kindern und bei jüngeren Erwachsenen im Alter von 33-44 Jahren verzeichnet werden [Jordan et al. 2019]. Trotz dieser Abnahme stellen die Diagnostik und die Therapie einer Karies immer noch die Hauptaufgaben der Zahnärztinnen und Zahnärzte dar [Marthaler et al. 1996, Ekstrand 2004, Marthaler 2004].

Folglich ist die frühzeitige Erkennung und Behandlung einer Karies durch den Behandler relevant, um mit Hilfe minimalinvasiver Prophylaxemaßnahmen der Zerstörung des Zahnes entgegenwirken zu können.

Für die Therapieplanung ist neben der Lage der kariösen Veränderung auch die Aktivität maßgebend, die eine mögliche Tendenz der Läsion zur Progredienz liefert.

Neben der visuell-taktilen Erfassung der Zahnkaries stehen dem zahnmedizinischen Fachpersonal heute moderne Verfahren wie zum Beispiel röntgenologische, fluoreszenzbasierte oder biolumineszenzbasierte Methoden zur Verfügung.

Trotz moderner Ansätze und fortgeschrittener Technologie kann es bei der visuellen Methode der Kariesdiagnostik vorkommen, dass eine Karies wegen einer scheinbar intakten Zahnoberfläche unentdeckt bleibt – eine so genannte „hidden caries“ [Kidd et al. 1992, Weerheijm et al. 1992].

Um den Zahnerhalt zu ermöglichen, müssen neue Methoden entwickelt werden, so dass die frühzeitige Diagnostik einer Initialläsion gewährleistet ist. Vor der klinischen Anwendung neuer Verfahren bedarf es mehrerer Untersuchungen, die an extrahierten Zähnen hinsichtlich der Gesichtspunkte Validität, Reproduzierbarkeit, Funktionsweise und Zuverlässigkeit durchgeführt werden. Für solche In-vitro-Studien können zu Forschungszwecken Zähne nach einer Extraktion in verschiedenen Medien gelagert werden. Dadurch sind die Zähne vor Austrocknung geschützt, die möglicherweise einen unerwünschten Nebeneffekt bei den Messungen evozieren kann. Durch Desinfektion können Kreuzinfektionen der wissenschaftlichen Mitarbeitenden verhindert werden [Nawrocka und Łukomska-Szymańska 2019].

In der vorliegenden In-vitro-Studie wurde das CALCIVIS-Biolumineszenzverfahren (CALCIVIS® Caries Activity Imaging System (CALCIVIS Ltd. Edinburgh, Großbritannien)) unter Verwendung verschiedener Lagerungsmedien untersucht. Als

Lagerungsmedien für die extrahierten Zähne standen A = destilliertes Wasser, B = Chloramin-T und C = Einfrieren bei -20° C zur Verfügung.

Mit Hilfe des Biolumineszenzverfahrens kann eine Kariesaktivität innerhalb einer Läsion festgestellt werden. Dazu wird ein fotosensitives Protein auf die Zahnoberfläche aufgetragen. Liegt eine aktive Läsion vor, bindet das fotosensitive Protein die freien Kalziumionen auf der Oberfläche der Zahnhartsubstanz und wird durch eine integrierte Kamera als Lichtsignal (Biolumineszenz) sichtbar gemacht. Dadurch wird blaues Licht emittiert, das als digitales Bild erfasst wird. Auf der Basis dieser Erkenntnisse kann die weitere Behandlung und Therapie durch die zahnmedizinischen Behandler optimal geplant werden.

Das Ziel dieser Studie war es, ein geeignetes Lagerungsmedium zu finden, das die Biolumineszenzwerte nicht signifikant verändert und in zukünftigen Forschungen eingesetzt werden kann.

In der folgenden Literaturübersicht wird auf die Karies im Allgemeinen, ihre Ätiologie und Aktivität eingegangen. Neben der Erläuterung des Einsatzes des Biolumineszenzverfahrens in verschiedenen Studien werden sowohl die Wirkung verschiedener Lagerungsmedien auf die Fluoreszenzmessung als auch die Veränderung der Beschaffenheit der Zahnhartsubstanz untersucht.

2 Literaturübersicht

2.1 Ätiologie der Karies

Die Entstehung einer Karies wird durch vier Primärfaktoren begünstigt: durch das Zusammentreffen von Zahn (Wirt), Bakterien, Zucker (Substrat) und Zeit. Erst die Wechselwirkung dieser Faktoren kann eine Karies zur Folge haben [Fejerskov und Kidd 2007].

Karies gilt als multifaktorielle Erkrankung, denn sie wird neben der Geschwindigkeit der voranschreitenden Läsion und dem Kariesrisiko auch von individuellen, verhaltensbedingten und sozialen Faktoren – den Sekundärfaktoren – beeinflusst. Dazu gehören die Fließrate des Speichels, die Häufigkeit der Zufuhr kariogener Substrate und eine ungünstige Zusammensetzung der Ernährung von Kindern [Fejerskov und Kidd 2007, Harris et al. 2004].

Bereits im Jahre 1889 wurde die chemo-parasitäre Theorie aufgestellt, dass Säurebildung aus niedermolekularen Kohlenhydraten durch kariogene Mikroorganismen auftreten kann. Dies hat eine Veränderung der Zahnsubstanz zur Folge [Miller 1889]. In Erweiterung der chemo-parasitären Theorie nach *Miller* [1889] wurde der dentale Biofilm als Entstehungsgrundlage für Karies herangezogen [Klimm 1997]. Die im Biofilm enthaltenen Bakterien produzieren Säure, wodurch sich der pH-Wert in ein säuerliches Milieu verschiebt und die Demineralisation des Schmelzes beginnt [Pistacchio und Disperati 2000, Hellwig et al. 2013]. Auch jüngste Fortschritte in der zahnmedizinischen Forschung zur Karies weisen nach, dass das Gleichgewicht zwischen der Demineralisation und der Remineralisation der Zahnhartsubstanz bei Karies in Richtung Demineralisation verschoben wird [Takahashi und Nyvad 2008].

Die im dentalen Biofilm befindlichen Mikroorganismen haften über schwache elektrostatische Anziehungskräfte, die Van-der-Waals-Kräfte, an der Zahnoberfläche [Gibbons 1989]. Durch eine professionelle Zahnreinigung oder durch gründliches Zähneputzen kann der Biofilm entfernt werden.

Es ist zu berücksichtigen, dass die Mikroorganismen an Fissuren oder an Stellen mit Entwicklungsdefekten auch ohne Anziehungskräfte haften können [Fejerskov et al. 1984, Ekstrand et al. 1999].

Die Mikroorganismen Laktobazillen und Mutansstreptokokken metabolisieren Zucker zu Milchsäure, Propionsäure und Essigsäure. Bei einer erhöhten Konzentration an Zucker wird Milchsäure gebildet, die zur Verringerung des pH-Wertes führt. Für den

Zahnschmelz kritische pH-Werte liegen bei 5,2-5,7 und bei 6,2-6,7 für Dentin [Heidemann 2005]. Dies hat zu Folge, dass es zu Demineralisationsvorgängen im Schmelz und im Dentin kommt [Cole und Eastoe 1977]. Nach 60 Minuten tritt vorrangig durch den Speichel die Neutralisation des pH-Wertes ein. Dabei werden die zuvor gelösten Kalzium- und Phosphationen aus dem Schmelz wieder in den defekten Bereichen der Zahnhartsubstanz eingelagert [Kidd 2005]. Somit lassen sich kariogene Prozesse auch als dynamische Verfahren zwischen De- und Remineralisationszyklen verstehen.

Eine Karies ist durch Stagnation, Progression und Remission gekennzeichnet. Durch den kariesprotektiven Einfluss von Fluoriden können initiale Läsionen stagnieren [Tubert-Jeannin et al. 2011, Hansen und Nyvad 2017].

Zu den typischen Kariesretentionsstellen, an denen ein Zahnhartsubstanzverlust beobachtet wird, zählen die Approximalräume im Bereich der Höckerspitzen und Fissuren bei den Prämolaren und während des Zahndurchbruchs bei den Molaren [Carvalho et al. 1989, Thylstrup et al. 1994].

2.2 Visuell-taktile Methoden der Kariesdiagnostik

Den Zahnärztinnen und Zahnärzten stehen heute viele Möglichkeiten zur Verfügung, eine Karies nach Ausdehnung, Lage und Aktivität zu erkennen. Jedoch gibt es keine einzelnen Faktoren, die erkennen lassen, ob eine Karies aktiv oder inaktiv ist. Die Aktivität zeigt die Wahrscheinlichkeit, mit der eine Karies zum Wachstum oder zur Stagnation kommen kann. Daher wurden als Faktoren das Vorhandensein des dentalen Biofilms, die Lokalisation der Läsion, das visuelle Erscheinungsbild und die taktile Empfindung vorgeschlagen [Ekstrand et al. 2009; Ekstrand et al. 1998, Pitts 2009].

Lange Zeit galt die zahnärztliche Sonde als bedeutsames Hilfsmittel zur visuell-taktilen Inspektion der Zahnkaries. Durch Untersuchungen mittels eines Rasterelektronenmikroskops konnten in verschiedenen Studien beim Sondieren an demineralisierten Fissuren Schmelzdefekte und Fissureneinbrüche mit der Schaffung von Hohlräumen diagnostiziert werden. Diese begünstigen eine progressive Entwicklung einer kariösen Läsion [Bergman und Lindén 1969, Ekstrand et al. 1987, Yassin 1995, Kühnisch et al. 2007].

Für den Grad eines möglichen Schadens bei der Untersuchung ist das Maß des von den Behandelnden angewendeten Sondierungsdrucks entscheidend [Yassin 1995, Wagner et al. 2003].

Die von der World Health Organization (WHO) empfohlene CPI-Sonde, deren Spitze mit einer Kugel ausgestattet ist, verursacht geringen Schaden [Peterson und Baez 2013]. Dennoch wird für die Untersuchung die Ausübung eines angemessenen Drucks empfohlen [Mattos-Silveira et al. 2016].

Wesentlich sind beim Einsatz der visuellen Diagnostik ein vorangegangenes Reinigen und Trocknen der Zahnoberflächen sowie optimale Lichtverhältnisse [Fejerskov und Kidd 2007, Ismail 2004, Shivakumar et al. 2009].

Durch die Vorreinigung der Zähne kann zwischen aktiven und inaktiven Läsionen differenziert werden. Charakteristisch für eine aktive Läsion sind weißlich-kreidige Flecken an den Zahnoberflächen, braune Verfärbungen sprechen für eine inaktive Läsion. Da sich der Brechungsindex poröser Zähne bei Feuchtigkeit anders verhält, sollten die Zahnoberflächen mit einem Püster getrocknet werden. Während Läsionen mit einem hohen Mineralisationsverlust auch ohne den Trocknungsvorgang sichtbar sind, können Läsionen, die einen geringen Mineralisationsverlust aufweisen, nur im trockenen Zustand erkannt werden [Thylstrup et al. 1994, Ekstrand 2004].

Im Folgenden werden einige visuell-taktile Methoden der Kariesdiagnostik beschrieben und im Anschluss daran wird auf das Biolumineszenzverfahren eingegangen.

2.2.1 ICDAS-Klassifikation

Das International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) wird als Bewertungssystem zur Erkennung und Beurteilung von Karies eingesetzt. Es kann auf Koronal- und Wurzeloberflächen sowie auch bei Schmelzkaries, Dentinkaries und Läsionen mit oder ohne Kavität angewendet werden [Braga et al. 2009, Ismail et al. 2007].

Das ICDAS I wurde 2002 entwickelt und 2005 auf ICDAS II umgestellt. Die Kriterien für das ICDAS I und II basieren auf den Konzepten von *Ekstrand et. al* [1995, 1997] und werden aktuell als ICDAS-Klassifikation bezeichnet.

Das Ziel ist es, mit der Verwendung des ICDAS eine qualitativ bessere Information zu erhalten, um eine Entscheidung hinsichtlich der Diagnose, Therapie und Prognose treffen zu können [Pitts 2004].

Tabelle 2.1 zeigt die sieben visuellen Schweregrade des ICDAS. Hierbei handelt es sich um die Primärkaries, die sich auf nicht restaurierten Flächen befindet.

Tabelle 2.1: International Caries Detection and Assessment System ICDAS in Anlehnung an https://www.iccms-web.com

Code	Beschreibung
0	Nach der Lufttrocknung (5s) ist keine Karies sichtbar. Defekte der Schmelzentwicklung wie Schmelzhypoplasie, Fluorose sowie Erosion, Abrasion, Attrition und Verfärbungen der Fissuren werden mit Code 0 belegt.
1	Nach der Lufttrocknung werden visuelle Veränderungen, z. B. Opazitäten, bräunliche oder weißliche Verfärbungen, deutlich.
2	Visuelle Veränderungen werden bereits am feuchten Zahn sichtbar. Opazitäten wie White Spot Läsionen und/oder bräunliche kariöse Verfärbungen in Fissuren und Grübchen sind zu erkennen. Die Läsion ist auch im trockenen Zustand erkennbar.
3	Lokalisierte Schmelzzersetzung aufgrund von Karies ohne sichtbares Dentin oder aufgrund von darunterliegenden Schatten als Anzeichen der Demineralisation kann identifiziert werden. Am feuchten Zahn werden Opazitäten wie White Spot Läsionen und/oder braune kariöse Läsionen über die Grenzen der Fissuren und Grübchen ausgedehnt und noch im trockenen Zustand ausgemacht.
4	Eine Schattenbildung (gräulich, bläulich oder bräunlich) im Dentin mit oder ohne Schmelzeinbruch, der durch einen scheinbar intakten Schmelz sichtbar ist, wird festgestellt.
5	Deutliche Kavität mit freiliegendem Dentin wird identifiziert. Eine WHO-Sonde kann zum Ertasten des freiliegenden Dentins genutzt werden.
6	Deutliche ausgedehnte Kavität mit sichtbarem Dentin kann ausgemacht werden. Das Dentin ist mindestens zur Hälfte kariös zerstört, so dass auch die Pulpa betroffen sein kann.

Darüber hinaus kann die Kariesaktivität ermittelt werden. Die folgende Tabelle 2.2 zeigt weitere Kriterien, die sich mit der Aktivität der Karies befassen [International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) Coordinating Committee, Criteria Manual. Bogota, Columbia and Budapest, Hungary 2009].

Tabelle 2.2: ICDAS-Aktivitätsbewertung kariöser Läsionen in Anlehnung an https://www.iccms-web.com

Code	Aktive Läsion	Inaktive Läsion
1,2,3	Die Schmelzoberfläche ist matt, opak (weißlich, gelblich) und fühlt sich beim Sondieren rau an. Die Läsion befindet sich in einer Prädilektionsstelle für den dentalen Biofilm, wie z. B. in Fissuren und Gruben, in der Nähe der Gingiva und unterhalb des Approximalkontakts.	Die Schmelzoberfläche ist glänzend, kann weißlich, bräunlich oder schwarz sein und fühlt sich beim Sondieren glatt und hart an. Bei Glattflächen liegt die Läsion typischerweise in der Nähe des Zahnfleischsaumes.
4	Wahrscheinlich aktiv	
5-6	Beim Sondieren fühlt sich die Kavität weich und ledrig an.	Die Kavität ist glänzend und beim Sondieren hart.

In-vitro-Studien zeigen gute Ergebnisse bei der Anwendung des ICDAS hinsichtlich der SP und SE im moderaten bis in den hohen Bereich auf das D1-D3 Niveau (SE für D1 = 0,59-0,91; SP für D1 = 0,50-0,91; SE für D3 = 0,48-0,83; SP für D3 = 0,52-0,93) [Braga et al. 2010, Jablonski-Momeni et al. 2008, Rodrigues et al. 2008, Diniz et al. 2012, Achilleos et al. 2013]. Die Kombination der Bissflügelaufnahme mit der visuellen Inspektion durch ICDAS zeigt die besten Ergebnisse in der Diagnostik der Dentinkaries [Rodrigues et al. 2008].

Auch gut erprobt hinsichtlich der Aktivitätseinschätzung einer Zahnkaries sind die visuell-taktilen Kriterien nach *Nyvad et al.* [1999], die in Abschnitt 2.2.2 dargestellt werden.

2.2.2 Nyvad-Kriterien

In einer Studie von *Nyvad et al.* [1999] wurde die Aktivität einer Karies mit dem Vorhandensein des dentalen Biofilms und den Eigenschaften Farbe, Glanz und Rauigkeit einer Läsion in Verbindung gebracht. Hierzu wurden zehn Grade mit einer

Gradeinteilung von 0-9 verwendet. Bei den Graden 1-3 und 8 handelt es sich um eine aktive Läsion, bei den Graden 4-6 und 9 um eine inaktive Läsion. Grad 7 steht für eine gefüllte, gesunde Fläche. Die diagnostischen Kriterien von *Nyvad et al.* [1999] sind in Tabelle 2.3 aufgelistet.

Tabelle 2.3: Diagnostische Kriterien in Anlehnung an *Nyvad et al.* [1999]

Grad	Kategorie	Kriterien
0	Gesund	Gesunde normale Schmelztransluzenz und -textur
1	Aktive Karies (intakte Oberfläche)	Aktive opake Schmelzoberfläche (weißlich, gelblich) sowie fehlender Glanz Die Oberfläche fühlt sich beim Sondieren rau an und ist vom dentalen Biofilm bedeckt. Klinisch ist eine intakte Fissurenmorphologie ohne Substanzverlust mit veränderten Fissurenwänden zu beobachten.
2	Aktive Karies (Unterbrochene Oberfläche)	Eine aktive Karies löst eine Unterbrechung der Schmelzoberfläche aus. Die weiteren Kriterien entsprechen denjenigen von Grad 1.
3	Aktive Karies (Kavität)	Aktive Karies mit Schmelz-Dentin-Beteiligung Die Pulpa kann betroffen sein.
4	Inaktive Karies (intakte Oberfläche)	Die Schmelzoberfläche ist glänzend, hart, weißlich, bräunlich oder schwarz. Die Fissurenmorphologie ist bei veränderten Fissurenwänden intakt.
5	Inaktive Karies (unterbrochene Oberfläche)	Inaktive Karies mit Schmelzbeteiligung Die weiteren Kriterien entsprechen denjenigen von Grad 4.
6	Inaktive Karies (Kavitätenbildung)	Inaktive Karies mit Schmelz-Dentin-Beteiligung und Kavitätenbildung Die Pulpa ist nicht betroffen.
7	Gefüllte, gesunde Fläche	
8	Gefüllte Fläche mit aktiver Karies	Aktive Karies mit/ohne Kavität
9	Gefüllte Fläche mit inaktiver Karies	Inaktive Karies mit/ohne Kavität

2.3 CALCIVIS® Caries Activity Imaging System

Ein innovatives Verfahren zur Erfassung der Kariesaktivität ist das CALCIVIS® Caries Activity Imaging System, das mittels Biolumineszenz die Bestimmung der Aktivität einer kariösen Läsion ermöglicht. Dazu wird ein fotosensitives Protein auf die Zahnoberfläche aufgetragen. Bei einer aktiven Läsion lösen sich Kalziumionen aus der Zahnhartsubstanz und liegen in ungebundener Form auf der Läsionsoberfläche vor. Diese freien Kalziumionen werden von dem fotosensitiven Protein auf der Oberfläche der Zahnhartsubstanz gebunden und durch eine integrierte Kamera als Lichtsignal (Biolumineszenz) sichtbar gemacht. Das emittierte blaue Licht wird als digitales Bild dargestellt. Die Biolumineszenz verhält sich proportional zu den freien Kalziumionen auf der Läsionsoberfläche und zeigt bei einer aktiven Läsion blaue Felder, bei einer gesunden Zahnoberfläche hingegen keine blauen Felder. So wird die Diskriminierung zwischen einer aktiven Läsionsoberfläche und einer gesunden Zahnoberfläche ermöglicht [Pitts et al. 2013]. Ebenso können mithilfe des Bildgebungssystems aktive Demineralisationsprozesse in frühen Stadien – also die noch reversible Initialkaries – identifiziert und den Patienten und Patientinnen veranschaulicht werden. Im Fall einer Läsion kann durch die frühzeitige Behandlung eine weitere Ausbreitung der Karies unterbunden werden.

Erste Studien zeigen erfolgreiche Ergebnisse beim Einsatz vom Biolumineszenzverfahren zur Detektion einer Kariesaktivität. *Jablonski-Momeni und Kneib* [2016] konnten in einer Studie an 46 bleibenden Zähnen signifikant hohe Übereinstimmungen zwischen der visuellen Befundung einer Kariesaktivität nach ICDAS und nach Nyvad und den Messungen mit dem Biolumineszenzverfahren verzeichnen. Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman lag für Nyvad/CALCIVIS (rs = 0,776) und für ICDAS/CALCIVIS (rs = 1,0) im hohen Bereich.

In einer weiteren Studie wurden 94 Zähne der zweiten Dentition an der Okklusalfläche untersucht [Jablonski-Momeni et al. 2018]. Diese wurden visuell nach ICDAS klassifiziert und mit Hilfe der Biolumineszenzmessung auf Kariesaktivität untersucht. Nach vier Wochen wurde die Messung erneut vorgenommen. Nach der anschließenden Hemisezierung der Zähne wurde zur histologischen Untersuchung Methylrot auf die Abschnitte aufgetragen. Die Ergebnisse der Messungen mit dem Biolumineszenzverfahren wurden mit den Ergebnissen der visuell-taktilen Untersuchung und dem nachfolgenden histologischen Verfahren mit Methylrot

verglichen. Die Übereinstimmungen wurden durch die κ-Werte aufgezeigt (κ = 0,802-0,917). Unter *Verwendung* der Histologie für die Aktivitätsbewertung als Goldstandard ergaben sich für die visuell-taktile Inspektion eine SE von 83,6 % und eine SP von 85 % und für das Biolumineszenzverfahren eine SE von 92,5 % und SP von 90 %. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen der visuellen Befundung und dem Biolumineszenzverfahren festgestellt werden (p = 0,094). Damit zeigt sich eine hohe In-vitro-Reproduzierbarkeit und eine gute diagnostische Genauigkeit für die Aktivitätsbewertung kariöser Läsionen mit der Biolumineszenzmethode.

Gallie et al. [2017] konditionierten die Okklusalflächen in mehreren Untersuchungen für einen unterschiedlich langen Zeitraum mit Phosphorsäure (30 %). Je länger die Phosphorsäure auf den Zahn wirkte, desto höher wurden die Biolumineszenzwerte. Erklären lässt sich dieses Ergebnis damit, dass durch die Phosphorsäure vermehrt Kalziumionen auf der Zahnoberfläche frei werden.

Weiterhin wurde die Reproduzierbarkeit vom Biolumineszenzverfahren bei wiederholtem Applizieren des Fotoproteins in kurzen Zeitabständen untersucht [Vernon et al. 2017]. Diese Studie zeigt, dass mit dem Biolumineszenzverfahren bei bis zu sechs hintereinander durchgeführten Messungen weiterhin reproduzierbare Darstellungen dokumentiert werden konnten, bis ein Rückgang der Biolumineszenz validiert wurde. Die Ausgangsdarstellungen konnten nach angemessener Rehydratationszeit erreicht werden. Die Veränderung der Biolumineszenz erklärt sich durch den Rückgang der freiliegenden Kalziumionen auf der Zahnoberfläche [Vernon et al. 2017].

In der Studie von *Neuhaus et al.* [2017] wurde die Fähigkeit der Remineralisationsprozesse untersucht. Mit dem Biolumineszenzverfahren konnten aktive und inaktive Läsionen erfasst werden. Nach dem Remineralisationsverfahren wurden zuvor aktive Läsionen inaktiv und nach erneuter Messung konnte keine Biolumineszenz mehr nachgewiesen werden.

Die Korrelation der visuellen Diagnostik nach ICDAS und Nyvad mit dem Biolumineszenzverfahren sowie die Reproduzierbarkeit des CALCIVIS-Prototyps wurden in der Studie von *Moos* [2018] an 55 Milchzähnen untersucht. Für das Biolumineszenzverfahren konnte eine hohe Reproduzierbarkeit nachgewiesen werden (κ = 0,79). Die Korrelation für Nyvad/CALCIVIS (1. Messung/2. Messung) lag bei rs = 0,31/0,44 und für ICDAS/CALCIVIS (1. Messung/2. Messung) bei rs = 0,25/0,39.

Zwischen beiden Untersuchungen lag kein signifikanter Unterschied vor (p = 0,47). Die Reproduzierbarkeit war hier mit ICC = 0,661 ebenfalls hoch.

Die Korrelation der visuellen Befundung und der Messung durch das Biolumineszenzverfahren wurde auch in anderen Studien untersucht. In der In-vivo-Studie von *Jablonski-Momeni et al.* [2022] konnte festgestellt werden, dass das Calcivisbildgebungssystem (Cis) und die visuelle Befundung einer aktiven Karies an Okklusalflächen eine wesentliche Übereinstimmung aufwiesen. Hierfür wurden 91 bleibende Zähne zu drei Zeitpunkten innerhalb von zwölf Monaten untersucht. Zum Zeitpunkt T_1 (Ausgangswert) konnte eine Übereinstimmung von 87,8 % verzeichnet werden, zum Zeitpunkt T_2 (nach 6 Monaten) eine Übereinstimmung von 89,9 % und zum Zeitpunkt T_3 (nach 12 Monaten) eine Übereinstimmung von 88,6 % verzeichnet werden. Zu keinem Zeitpunkt konnte ein statistisch signifikanter Unterschied validiert werden (p = 0,108).

In einer Studie von *Pitts et al.* [2021] wurden ebenfalls die Ergebnisse der visuell-taktilen Untersuchung mit den Ergebnissen des Cis verglichen. Hierbei wurden 110 Teilnehmer im Alter von 7-74 Jahren von fünf Behandelnden untersucht. 90 Zähne wurden nach der visuell-taktilen Begutachtung als gesund eingestuft, 88 von ihnen zeigten bei Cis keine Lumineszenz. Dies entspricht einer Übereinstimmung von 97,8 %. Eine ebenfalls hohe Übereinstimmung von 90,7 % konnte bei Zähnen mit einer aktiven Läsion validiert werden. 86 Zähne wurden visuell als kariös eingestuft, 78 von ihnen zeigten bei Cis eine Lumineszenz. Die hohe Analogie der Ergebnisse dieser Studie zum Vergleich zwischen visuell-taktiler Befundung und der Messung mit Cis demonstriert, dass aktive von nicht aktiven Läsionen mit hoher Genauigkeit voneinander unterschieden werden können. Somit sind die Sicherheit und die Zuverlässigkeit des Cis beim klinischen Einsatz gewährleistet.

Zahnschmelzdemineralisation ist eine unerwünschte Nebenwirkung nach einer kieferorthopädischen Behandlung mit festsitzenden Apparaturen und sollte frühzeitig diagnostiziert werden. Ziel der In-vitro-Studie von *Jablonski-Momeni et al.* [2021] war die Untersuchung der Möglichkeit, mit der Biolumineszenztechnologie künstlichen demineralisierten Schmelz, der dem natürlichen Schmelz gleicht und an verschiedenen kieferorthopädischen Brackets anliegt, zu charakterisieren. 108 Zähne mit unterschiedlichen Bracketmaterialien wurden aleatorisch ausgewählt und nach ihren Materialien in verschiedenen Einheiten zugewiesen: Titan, Keramik, Edelstahl. Neben den Brackets wurden an den Zähnen initiale Läsionen geschaffen. Die Zähne wurden

anschließend mit der Biolumineszenztechnologie vor und nach der Demineralisation kontrolliert, um auf den Bildern die Anwesenheit von Biolumineszenzfeldern zu eruieren (ja/nein Entscheidung). Zur Quantifizierung der Biolumineszenzmessung wurden am Rand neben den Brackets in einem definierten Bereich (F) Pixelwerte (P) vor und nach der Demineralisation berechnet. Als Referenzstandard für die Demineralisationsprozesse wurden quantitative lichtinduzierte Fluoreszenzaufnahmen (QLF) angefertigt. Bei 87 % der Zähne waren nach der Demineralisation Biolumineszenzfelder erkennbar (ja/nein Entscheidung). Im Vergleich zum Ausgangswert zeigten sich nach der Demineralisation bei der Analyse der Biolumineszenzfelder signifikant höhere Pixelwerte ($p < 0{,}0001$). Die Biolumineszenzmessung wurde nicht von den Bracketmaterialien beeinflusst. Alle Proben wiesen einen Fluoreszenzverlust mit einem mittleren ΔF (Fluoreszenzverlust) von -9,52 % (±3,15) beziehungsweise mit einem mittleren ΔQ (Läsionsvolumen) von -1,01 % × mm^2 (±3,34) auf. Diese Ergebnisse dokumentieren, dass sich Demineralisationsprozesse neben kieferorthopädischen Brackets digital mit Hilfe von Biolumineszenzverfahren darstellen lassen. Damit können, anders als bei der visuellen Inspektion und Überwachung, aktive Demineralisationsprozesse mittels einer objektiven Darstellung mit den Behandelten gemeinsam analysiert und beurteilt werden [Jablonski-Momeni et al. 2021].

Longbottom et al. [2021] untersuchten einen Biolumineszenzmarker auf sein Potenzial. Zur Analyse der Lichtintensität wurde der Biolumineszenzmarker in verschiedenen Versuchen gemessen, um die Freisetzung von Kalziumionen zu beurteilen: (a) Kontakt mit einer Auswahl von Kalziumionen, (b) an extrahierten Zähnen mit Medien unterschiedlicher pH-Werte und (c) an frisch extrahierten Zähnen mit natürlichen und künstlich erzeugten kariösen Läsionen auf Okklusal- und Glattflächen. Eine höhere Lichtintensität des Markers konnte (a) mit zunehmender Kalziumionenkonzentration und (b) mit zunehmend sauren Lösungen validiert werden. Bei Versuch (c) erzeugten die Biolumineszenzbilder an den abgebildeten Oberflächen „Entmineralisierungskarten“. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe beweisen die Möglichkeit zur Darstellung von Zahnkaries und Erosionen durch die Bindung von Kalziumionen auf der Zahnschmelzoberfläche auf der Grundlage des Biolumineszenzverfahrens. Die Resultate liefern damit die wissenschaftliche Voraussetzung für eine kontinuierliche Entwicklung dieser neuen Technologie.

2.4 Lagerung extrahierter Zähne

Zu Forschungs- und Lehrzwecken werden in der Zahnmedizin häufig extrahierte menschliche Zähne verwendet, die in verschiedenen Medien gelagert werden können. Der Vorteil der Lagerung ist die Schaffung einer bakterienarmen Oberfläche der Zahnhartsubstanz, an der das wissenschaftliche Fachpersonal ohne das Risiko einer Kreuzinfektion arbeiten kann [Nawrocka und Łukomska-Szymańska 2019]. Extrahierte Zähne stellen eine biologische Gefahr dar und werden als Quelle für durch Blut übertragbare Krankheiten wie Hepatitis B oder AIDS angesehen [Brauer et al. 2008, Amaechi et al. 1999, Nawrocka und Łukomska-Szymańska 2019]. Das Center of Disease Control (CDC) veröffentlichte, um Infektionen zuvorzukommen, eine Leitlinie, die eine Sterilisation von extrahierten Zähnen vor dem Gebrauch durch die Verwendung eines Autoklavs voraussetzt. Die thermische Sterilisation von amalgamrestaurierten Zähnen sollte aufgrund der gesundheitsschädlichen Quecksilberdämpfe vermieden werden. Hierfür empfiehlt sich eher die chemische Sterilisation mit 10%igem Formalin über einen Zeitraum von zwei Wochen [Kohn et al. 2003]. Die normalerweise in der Zahnmedizin eingesetzten Lösungen wie Glutaraldehyd, quartäre Ammoniumverbindungen und Natriumhypochlorid entsprechen nicht den Anforderungen zur chemischen Sterilisation von extrahierten Zähnen [Dominici et al. 2001].

Berücksichtigt werden muss auch, dass die Zähne für wissenschaftliche Untersuchungen wertlos sind, falls sich die chemisch-physikalischen Charakteristika der Zahnhartsubstanz durch die Sterilisation verändert haben [Nawrocka und Łukomska-Szymańska 2019].

Das Lagerungsmedium und auch die Lagerungszeit induzieren einen Einfluss auf die Messungen, so dass es notwendig ist, ein geeignetes Medium zur längerfristigen Verwahrung der Zähne zu finden.

2.5 Einfluss von Lagerungsmedien

Unterschiedliche Lagerungsmedien nehmen Einflüsse auf Messungen. Die Ergebnisse der im Folgenden aufgeführten Studien verdeutlichen, dass Lagerungsmedien die anatomische Zusammensetzung des Zahnes verändern können. So stellten *Goodis et al.* [1991] fest, dass die Lagerung die Dentinpermeabilität beeinflussen kann. In ihrer Untersuchung wurden frisch extrahierte dritte Molaren eine Woche lang in einer von

vier Lösungen gelagert: (a) 70%iges Ethanol, (b) 10%iges Formalin, (c) destilliertes Wasser mit Thymol und (d) phosphatgepufferte Kochsalzlösung mit Thymol. Die Permeabilitätsmessungen erfolgten an zuvor präparierten Kronensegmenten. Validiert wurde über zwei unterschiedliche Zeiträume: 1, 4, 6 und 8 Tage und 1, 8, 15 und 22 Tage. Es wurde deutlich, dass die Permeabilität bei den Lagerungsmedien Ethanol und Formalin geringer war als bei destilliertem Wasser mit Thymol und bei Kochsalz mit Thymol. Die Lagerungszeit und die Lagerlösung zeigten statistisch signifikante Auswirkungen ($p < 0,05$) mit signifikanten Unterschieden in der Permeabilitätsmessung, besonders in der Probe destilliertes Wasser mit Thymol und in der Probe phosphatgepufferte Kochsalzlösung mit Thymol [Goodis et al. 1991].

Strawn et al. [1996] untersuchten mit spektroskopischen Methoden den Effekt verschiedener Lagerungsmedien auf die Dentinschicht. Insgesamt wurden 27 Dentinscheiben (0,75 mm dick) aus extrahierten dritten Molaren hergestellt. Diese Proben wurden spektroskopisch hinsichtlich chemischer Oberflächenveränderungen untersucht. Mindestens fünf Dentinproben wurden (a) in destilliertem Wasser mit 0,02 % Thymol, (b) in gereinigtem und gefiltertem Wasser, (c) in phosphatgepufferter Kochsalzlösung mit 0,02 % Thymol, (d) in Thymol, (e) in 70%igem Ethanol und (f) in 10%igem Formalin gelagert. Die Messungen wurden in regelmäßigen Zeitabständen (0, 1, 2, 7, 14, 21, 28 Tage) wiederholt und die Proben danach in frischen Lösungen gelagert. Ein Anstieg der Mineralisierung des Dentins konnte bei der phosphatgepufferten Kochsalzlösung mit Thymol gemessen werden. Destilliertes Wasser mit Thymol sowie gereinigtes und gefiltertes Wasser hingegen zeigten eine Reduktion der Mineralisierung des Dentins und galten daher als das geeignetste Medium [Strawn et al. 1996].

In einer Studie von *Moura et al.* [2004] wurde die Wirkung von Lagerungsmedien auf die Schmelzdemineralisation erforscht. Die hier verwendeten Proben waren 60 dritte Molaren, die in 2%igem Formaldehyd und in 0,01%igem Thymol gelagert wurden. Die beiden Lagerungsmedien wurden jeweils einem pH-Zyklus unterzogen bzw. nicht unterzogen, so dass vier unterschiedliche Lagerungsmedien zur Verfügung standen, auf die die Proben verteilt wurden. Untersucht wurden in dieser Studie die Mikrostärke im Querschnitt und der Prozentwert des Mineralvolumens der Proben nach der Lagerung. In den Gruppen F1 und F2 wurden die Proben in Formaldehyd (F1) und in Formaldehyd mit einem pH-Zyklus gelagert (F2), in den Gruppen T1 und T2 erfolgte die Lagerung in Thymol (T1) und in Thymol mit einem pH-Zyklus (T2). Die

Ergebnisse nach sechsmonatiger Lagerung zeigten, dass der verwendete pH-Zyklus des Lagerungsmediums Thymol (T2) das Schmelzsubstrat stärker in Richtung Demineralisation beeinflusste als die Formaldehydgruppe (F2). Die in Formaldehyd (F2) gelagerten Proben zeigten hinsichtlich der Schmelzdemineralisation hingegen große Beständigkeit.

Wie *Francescut et al.* [2006] in einer Studie feststellten, zeitigte die Lagerung der Proben in verschiedenen Medien unterschiedliche Ergebnisse in Bezug auf die Fluoreszenz. In dem Versuch wurden 40 extrahierte bleibende Zähne in vier Gruppen eingeteilt. Drei der vier Gruppen lagen bei 4° C jeweils in 1%igem Chloramin, in 10%igem Formalin und in 0,02%igem Thymol. Die vierte Gruppe wurde bei -20° C ohne jeglichen Zusatz gelagert. In regelmäßigen Abständen wurden Fluoreszenzmessungen vorgenommen. Nach dem Ende der zwei Jahre dauernden Studie konnte festgestellt werden, dass der Rückgang des Fluoreszenzwertes ($p < 0,01$) bei den Lagerungsmedien Chloramin, Formalin und Thymol auffällig war, während bei den eingefrorenen Zähnen ein leichter Anstieg der Fluoreszenzwerte (LF-Werte) zu verzeichnen war.

Somit war nachgewiesen, dass Lagerungsmedien einen Einfluss auf den Fluoreszenzwert nehmen.

Aufbauend auf der Studie von *Francescut et al.* [2006] maßen *Kaul et al.* [2014] den Rückgang der Fluoreszenz mit Hilfe eines Diagnodent-Pens. Das Ziel der Studie von *Kaul et al.* war es, in einem Zeitraum von einem Jahr zu eruieren, in welchem Lagerungsmedium die geringfügigste Änderung der Fluoreszenzwerte auftritt. Im Zuge dieser Forschung sollte auch die Validität des Diagnodent-Pens für den Einsatz in wissenschaftlichen Studien nachgewiesen werden. Zu Studienzwecken wurden insgesamt 90 zuvor eingefrorene Zähne verwendet, die in neun unterschiedliche Gruppen aufgeteilt wurden. Davon wurde eine Probe ohne Kontakt mit einem Lagerungsmedium bei -20° C gelagert (Gruppe 9). Die Gruppen 1 bis 8 wurden in 1%igem Chloramin, 10%igem Formalin, 10%igem gepufferten Formalin, in Salzlösung, 0,02%igem Thymol, 0,12%igem Chlorhexidin, 3%igem Natriumhypochlorit und in Speichelersatz bei 4° C aufbewahrt. Bei Abschluss der Studie konnte ein signifikanter Rückgang der Fluoreszenz in den Gruppen 1-8 nachgewiesen werden ($p < 0,05$). Bei Gruppe 9 kam es innerhalb der ersten 30 Tage zu einem geringen Abfall der LF-Werte. Auch in diesem Versuch zeigt die eingefrorene Probe die besten Ergebnisse [Kaul et al. 2014].

In der Studie von *Schühlmann* [2022] wurden 72 extrahierte humane Seitenzähne der zweiten Dentition über einen Zeitraum von vier Wochen in verschiedenen Lagerungsmedien zur Untersuchung des Fluoreszenzverhaltens mit der VistaCam iX® (VC iX), aufbewahrt. Jeweils 24 Zähne wurden in destilliertem Wasser, in Chloramin-T und durch Einfrieren bei - 20° C gelagert. Die Ergebnisse nach vier Wochen ergaben für destilliertes Wasser ($p = 0,16$) und bei den eingefrorenen Zähnen ($p = 1,0$) keine statistisch signifikanten Unterschiede der Fluoreszenzmessergebnisse. Für Chloramin-T konnten signifikante Unterschiede im Zeitverlauf von vier Wochen validiert werden ($p < 0,05$). Deshalb kann die Lagerung von extrahierten Zähnen in Chloramin-T für nachfolgende Studien zum Fluoreszenzverhalten nicht befürwortet werden. Die Lagerung der Zähne in destilliertem Wasser oder in gefrorenem Zustand kann hingegen befürwortet werden.

3 Zielsetzung und Fragestellung

Die Detektion der Karies hat in der Zahnheilkunde wegen des häufigen Auftretens dieser Zahnerkrankung einen hohen Stellenwert und ist für die zahnmedizinischen Behandler eine tägliche Herausforderung. Oftmals kann eine Karies hinsichtlich ihrer Ausdehnung und ihrer Aktivität nicht zweifelsfrei bestimmt werden. Dieser Fakt erschwert die Stellung einer eindeutigen Diagnose. Mit dem Biolumineszenzverfahren ist es möglich, die Aktivität einer kariösen Läsion zu diagnostizieren und ein adäquates Kariesmanagement anzubieten – der Grundbaustein der modernen, minimalinvasiven Therapie in der Zahnheilkunde.
Erste Studien zeigten bereits gute Ergebnisse zur Differenzierung zwischen einer aktiven und einer inaktiven Läsion mit biolumineszenzbasierten Verfahren [Jablonski-Momeni und Kneib 2016, Jablonski-Momeni et al. 2018].
Bei der Durchführung von In-vitro-Studien ist es essenziell, die Zähne in einem geeigneten Medium zu lagern, um sowohl eine Kreuzinfektion der Forschenden als auch eine Austrocknung der Zähne zu verhindern. Die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Zähne dürfen sich nicht ändern, um Unterschiede und Ähnlichkeiten zwischen den In-vitro-Ergebnissen und den klinischen Werten feststellen zu können [Nawrocka und Łukomska-Szymańska 2019].
Ziel dieser Studie war es, mit den aktuell gängigen Lagerungsmedien: A = destilliertes Wasser, B = Chloramin-T und C = Einfrieren bei -20° C das Biolumineszenzverfahren extrahierter Zähne zu untersuchen.

Folgende Hypothesen standen im Fokus dieser Studie:

Hypothese 1: Die durch ICDAS ermittelten Befunde korrelieren positiv mit den Biolumineszenzmessungen.

Hypothese 2: Zwischen den drei Lagerungsgruppen gibt es keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Biolumineszenzmessungen.

Hypothese 3: Die Biolumineszenzmesswerte innerhalb der einzelnen Lagerungsgruppen unterscheiden sich nicht signifikant im Zeitverlauf:

Hypothese 3a: Die Biolumineszenzmesswerte innerhalb der Lagerungsgruppe „destilliertes Wasser“ unterscheiden sich nicht signifikant im Zeitverlauf.

Hypothese 3b: Die Biolumineszenzmesswerte innerhalb der Lagerungsgruppe „Chloramin-T“ unterscheiden sich nicht signifikant im Zeitverlauf.

Hypothese 3c: Die Biolumineszenzmesswerte innerhalb der Lagerungsgruppe „Einfrieren bei -20° C“ unterscheiden sich nicht signifikant im Zeitverlauf.

4 Material und Methode

4.1 Versuchsdesign

Abbildung 4.1 zeigt den Ablauf der Studie schematisch.

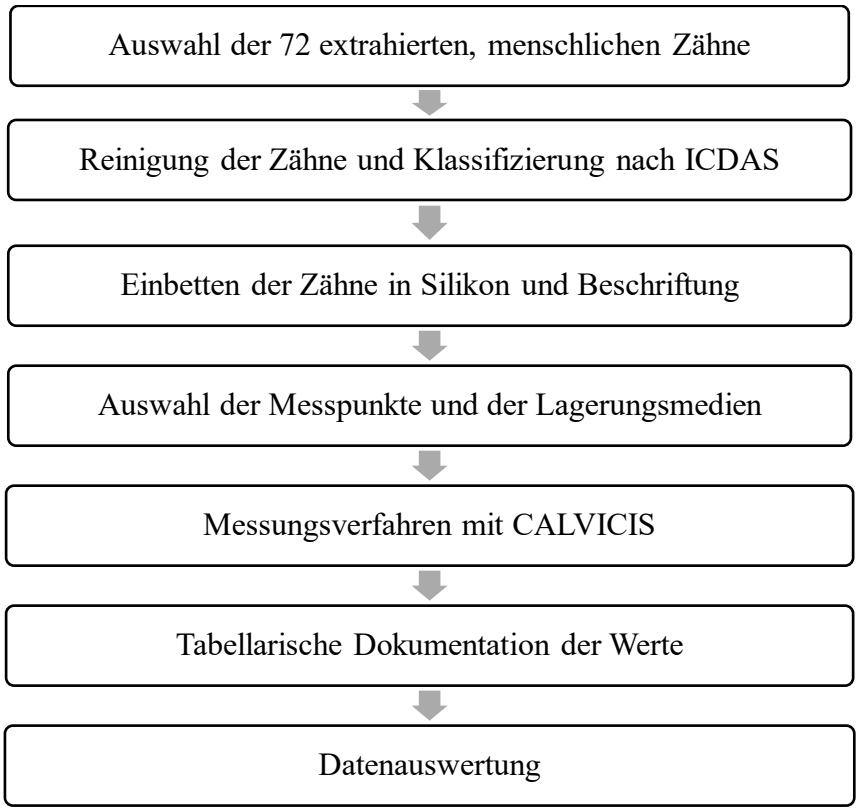

Abbildung 4.1: Versuchsablauf der Studie

4.2 Auswahl und Vorbereitung

Für diese Studie wurden 72 extrahierte menschliche Zähne der zweiten Dentition gesammelt. Ein positives Ethikvotum der Philipps-Universität Marburg, Fachbereich Medizin, zur Verwendung extrahierter Zähne lag bereits vor Beginn der Studie vor (Aktenzeichen 46/17). Die Patientinnen und Patienten willigten vor der Extraktion der Zähne schriftlich in eine wissenschaftliche Untersuchung der extrahierten Zähne ein. Nach der Zahnextraktion wurden die Zähne in einer 0,001%igen Natriumazid-Lösung gelagert. Anschließend erfolgte die Reinigung der Zähne gemäß dem Tooth Cleaning Protocol von CALCIVIS mit einer Reinigungspaste mit einem RDA-Wert (relative Dentin Abrasivity) von 120 (Clinpro Prophy Paste 3M, ESPE, Seefeld, Deutschland) und einem rotierenden Bürstchen mit Nylonfilamenten (Pluradent GmbH, Offenbach,

Deutschland). Mit einer Multifunktionsspritze mit Wasser und Luft wurden die Reste der Paste entfernt. Daraufhin wurden die Zähne mithilfe einer Lupenbrille und einer WHO-Sonde nach ICDAS kategorisiert. Anschließend wurden sie in Silikon (Silaplast Futur, DETAX GmbH & Co. KG, Ettlingen) eingebettet, fixiert und mit einem wasserfesten Stift nummeriert. Als Lagerungsmedien für die Studie standen A = destilliertes Wasser, B = Chloramin-T und C = Einfrieren bei -20° C zur Verfügung. Danach wurden die Gruppen in einem Kühlschrank aufbewahrt. Jeweils 24 Zähne wurden in den Gruppen ICDAS 0 ≙ gesund, ICDAS 1-2 ≙ Initialläsion und ICDAS 3-4 ≙ moderate Läsion kategorisiert. Pro Lagerungsmedium wurden jeweils 8 Zähne aus jeder ICDAS-Gruppe zur Verfügung gestellt (insgesamt 24 Zähne pro Lagerungsmedium). Abbildung 4.2 veranschaulicht diesen Ablauf.

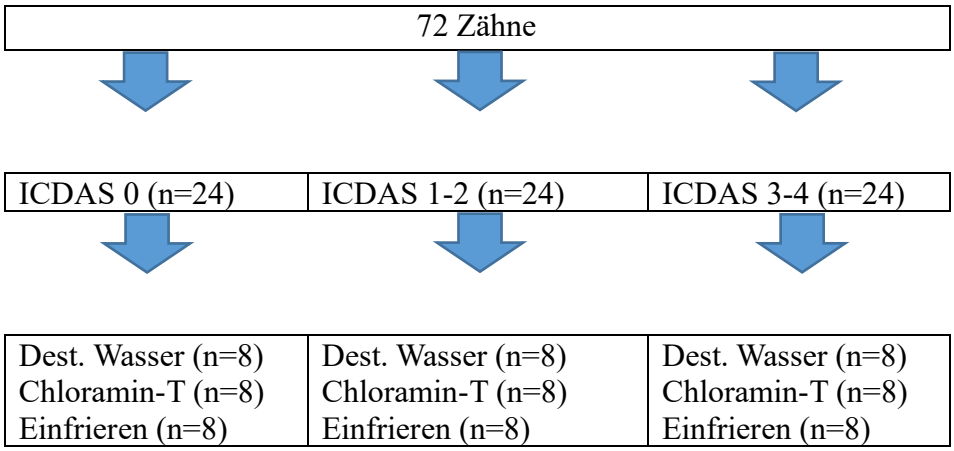

Abbildung 4.2: Versuchsablauf

Abbildung 4.3 zeigt beispielhaft zu untersuchende Zähne, die fotografiert und danach in einer PowerPoint Präsentation gespeichert wurden. Nach einem eintägigen Verbleib der Zähne in den jeweiligen Medien erfolgte die erste Messung (Baselinemessung). Weitere Messungen fanden nach einer Woche und nach vier Wochen statt.

Abbildung 4.3: Prüfzähne mit markierter Messfläche

4.3 Visuelle Befundung

Die visuelle Befundung erfolgte bei Tageslicht und unter standardisierter Beleuchtung durch zwei Behandelnde: eine approbierte Zahnärztin mit 24 Jahren Berufserfahrung (A) und ein Student aus dem 7. Fachsemester (B). Die Zähne wurden nach ICDAS klassifiziert (vgl. Kapitel 2.2.1) und anschließend tabellarisch mittels MS Excel dokumentiert, bevor sie von der behandelnden Zahnärztin A zur Festlegung der Messpunkte fotografiert wurden.

4.4 Untersuchung durch CALCIVIS

Die Untersuchung mit dem biolumineszenzbasierten Verfahren wurde mithilfe eines gestellten Prototyps, eines Laptops und der dazugehörigen Software durchgeführt (Abb. 4.4). Vor Beginn der Messungen wurde das Protein, das in Pulverform zur Verfügung stand, mit den mitgelieferten Wasserampullen durch Drehen in einem Fläschchen vermischt, so dass es für die Messung bereit war. Gemäß dem Handbuch wurden dafür 0,5 ml aus den Wasserampullen entnommen. Das Gemisch wurde anschließend mit einer Pipette aufgezogen, die vorher mit Wasserstoffperoxid gespült wurde, und auf der Zahnoberfläche angebracht. Danach wurde die auf 50 µl justierte Pipette seitlich an der CALCIVIS – Box montiert. Über die Software Pylon Viewer

und die Bildanalysesoftware ImageJ (Fiji), die über den Laptop an die Dark Box des CALCIVIS angeschlossen waren, konnten Messungen vorgenommen werden. Zudem konnte dadurch die integrierte Kamera gesteuert werden, um Aufnahmen zu machen. Zum Verdunkeln ließ sich die Box vollständig verschließen.

Abbildung 4.4: Die CALCIVIS Dark Box mit angeschlossenem Laptop

Abbildung 4.4 stellt die Box dar, in der sich eine kleine Lampe zur Optimierung der Lichtverhältnisse bei den Aufnahmen, eine Nadel, aus der das Fotoprotein auf die Zahnoberfläche appliziert wurde, eine integrierte Kamera und ein Lineal befanden, um die Position der abzubildenden Zähne rekonstruieren zu können. Die zu untersuchenden Zähne wurden 30 Minuten vor Beginn der Messung aus dem Kühlschrank entnommen. Danach wurden zwölf Zähne des ersten Lagerungsmediums A = destilliertes Wasser durch einen Luftpüster getrocknet und gemessen, während die andere Hälfte zum Schutz vor Austrocknung mit einem feuchten Tuch bedeckt war. Nach Beendigung der Messung an der ersten Hälfte der Zähne wurde auch die zweite Hälfte der Messung unterzogen. Danach wurde die Flüssigkeit des Lagerungsmediums ausgetauscht und durch eine frische Flüssigkeit ersetzt. Die Zähne wurden in dem Lagermedium wieder im Kühlschrank verwahrt.

Die erste Aufnahme erfolgte mit offenem Deckel bei einer Belichtungszeit von 700 ms. Vor Beginn der zweiten Aufnahme wurden die kleine Lampe ausgeschaltet, der Deckel verschlossen und das Fotoprotein mithilfe der Pipette appliziert, während die Software den Befehl gab, die Aufnahme zu starten. Dieser Vorgang fand bei einer Belichtungszeit von 2.000.000 ms statt. Auf dem Bildschirm wurde ein graues Lumineszenzbild erzeugt, das durch die Bildanalysesoftware ImageJ (Fiji) zu einem farbigen Lumineszenzbild verarbeitet wurde. Pro Zahnprobe wurden drei Aufnahmen

erstellt. Dieser Bildgebungsverlauf wurde mit allen 72 Zähnen durchgeführt. Nach Ende der Bildaufnahmen wurden die Zähne, die Pipette und der Schlauch wieder gereinigt, um verbliebene Reste des Fotoproteins zu beseitigen. Die Aufnahmen wurden nach einer und nach vier Wochen wiederholt.

Anhand der Aufnahmen wurden zuerst ja/nein Entscheidungen über die Anwesenheit von Biolumineszenzfeldern auf den Zähnen getroffen. Durch Pixelberechnungen mit Hilfe des Bildbearbeitungsprogramm ImageJ konnten die Biolumineszenzfelder (ja/nein Entscheidung) in einem definierten Bereich zusätzlich quantifiziert werden. Je höher der Pixelwert ausfiel, desto höher war die Aktivität. Anschließend wurden die Aufnahmen in eine PowerPoint Präsentation übertragen, um die Bilder detailliert miteinander vergleichen zu können. Um den Genauigkeitsfaktor beim Vergleich möglichst hoch zu halten, wurde bei der Pixelberechnung ein Viereck auf die Untersuchungsfläche projiziert, das den Dimensionen Länge, Breite, Horizontale und Vertikale der jeweiligen Prüfzähne entsprach. So wurde sichergestellt, dass die Messung des zu untersuchenden Zahnes immer an der gleichen Stelle vorgenommen wurde. Die folgenden Abbildungen (Abb. 4.5-4.10) zeigen graue sowie farbige Biolumineszenzaufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche nach Baseline und vier Wochen nach Baseline unter dem Einfluss verschiedener Lagerungsmedien. Des Weiteren wird anhand der farbigen Biolumineszenzaufnahmen die Kariesaktivität im Zeitverlauf mit Pixelwerten veranschaulicht.

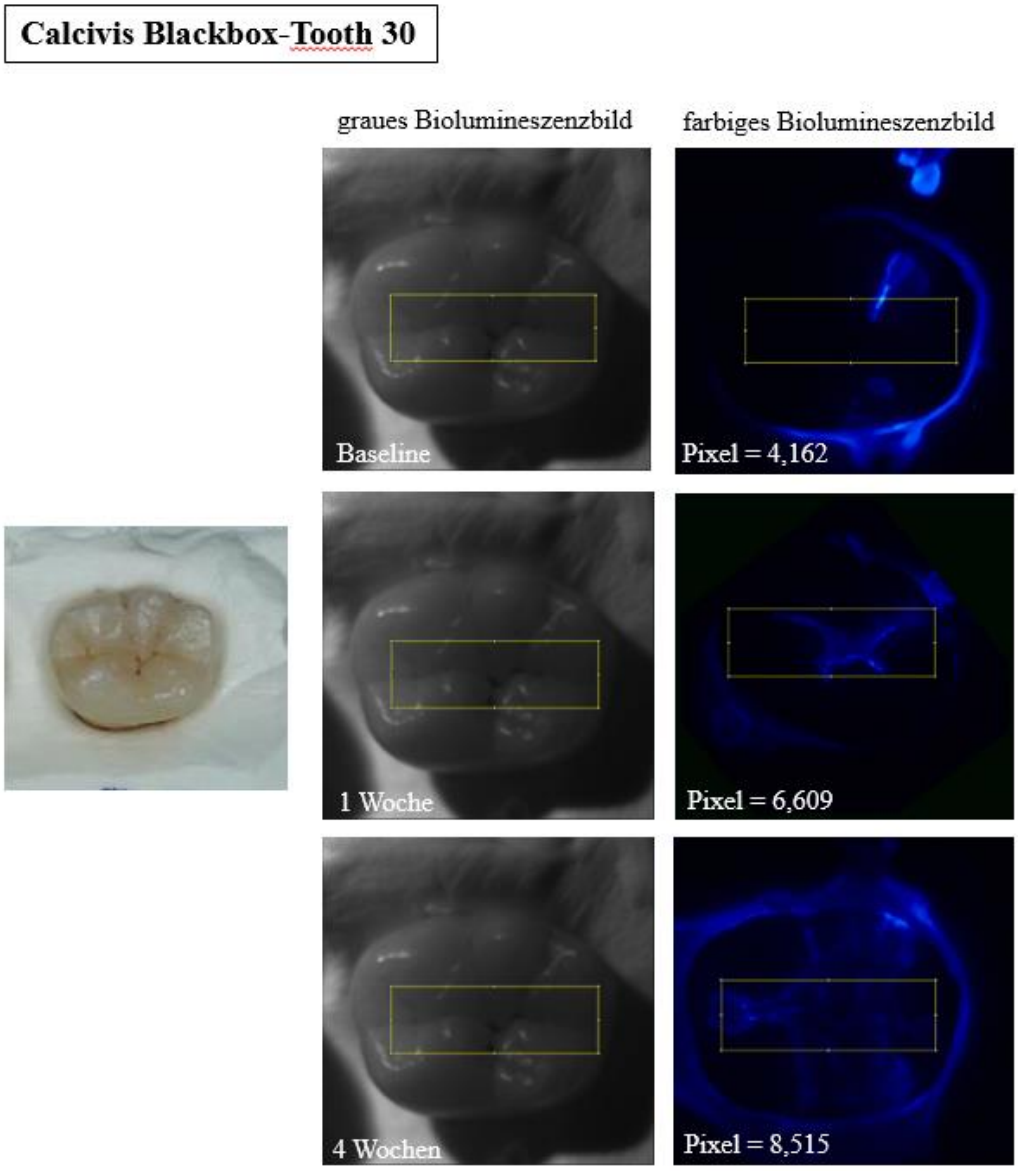

Abbildung 4.5: Aufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche und vier Wochen nach Baseline für Lagerungsmedium A = destilliertes Wasser. Die Zahnprobe zeigt eine moderate Läsion. In den Bildern der farbigen Biolumineszenz wurden in den zu untersuchenden Bereichen Pixelwerte errechnet. Die Pixelwerte zeigen einen leichten Anstieg der Aktivität der Karies im Zeitverlauf.

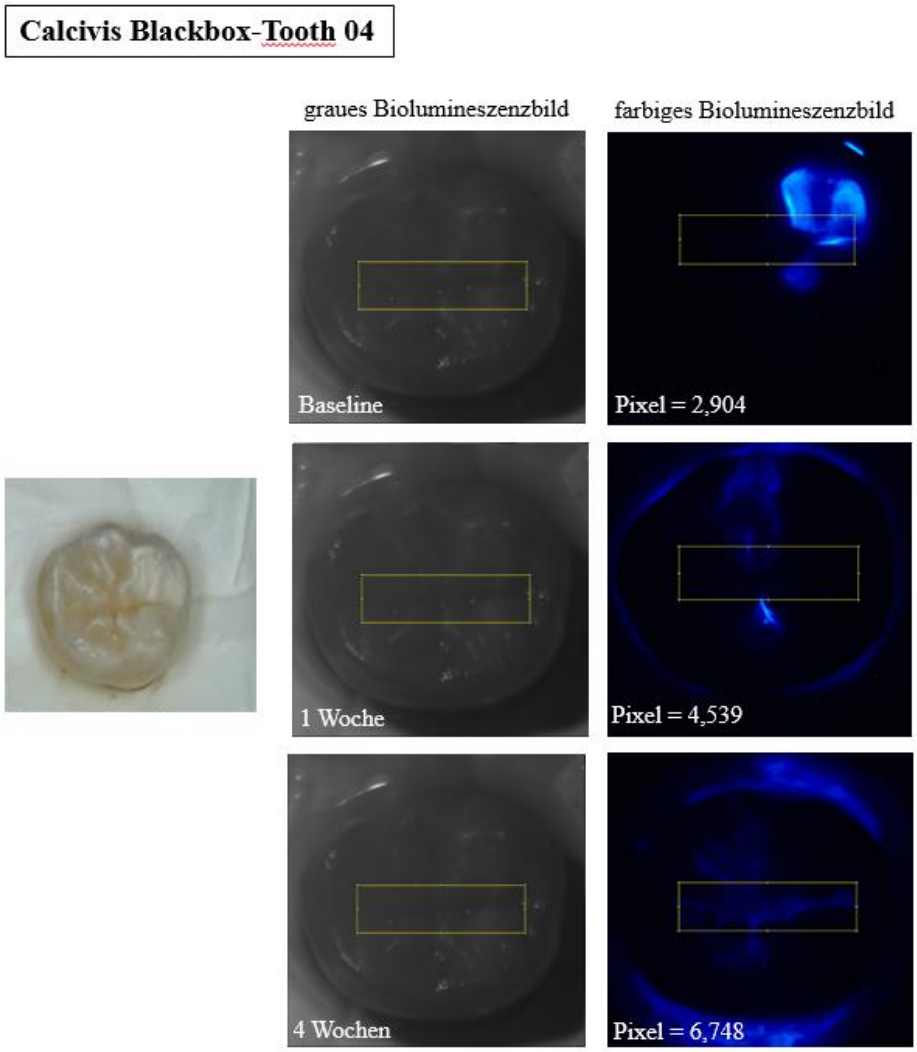

Abbildung 4.6: Aufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche und vier Wochen nach Baseline für Lagerungsmedium A = destilliertes Wasser. Die Zahnprobe zeigt eine Initialläsion. In den Bildern der farbigen Biolumineszenz wurden in den zu untersuchenden Bereichen Pixelwerte errechnet. Die Pixelwerte zeigen einen leichten Anstieg der Aktivität der Karies im Zeitverlauf.

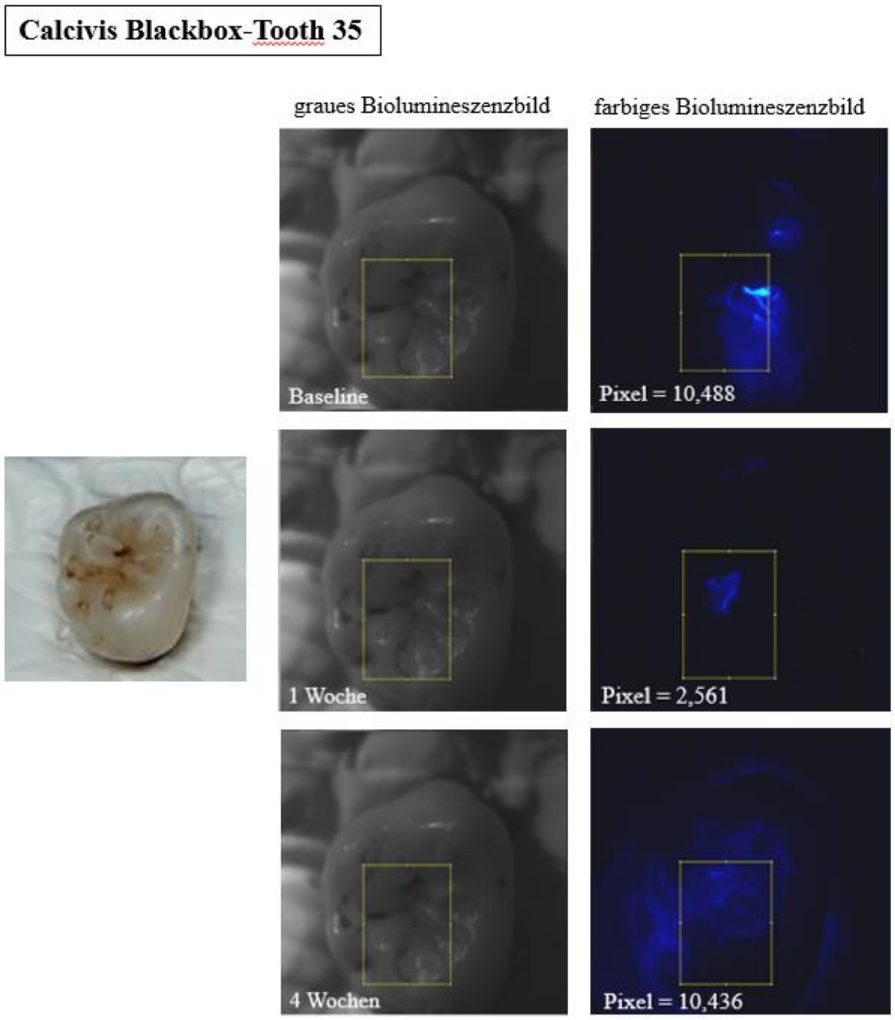

Abbildung 4.7: Aufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche und vier Wochen nach Baseline für Lagerungsmedium B = Chloramin-T. Die Zahnprobe zeigt eine moderate Läsion. In den Bildern der farbigen Biolumineszenz wurden in den zu untersuchenden Bereichen Pixelwerte errechnet. Die schwankenden Pixelwerte zeigen eine steigende Aktivität der Karies zum Zeitpunkt Baseline und vier Wochen danach.

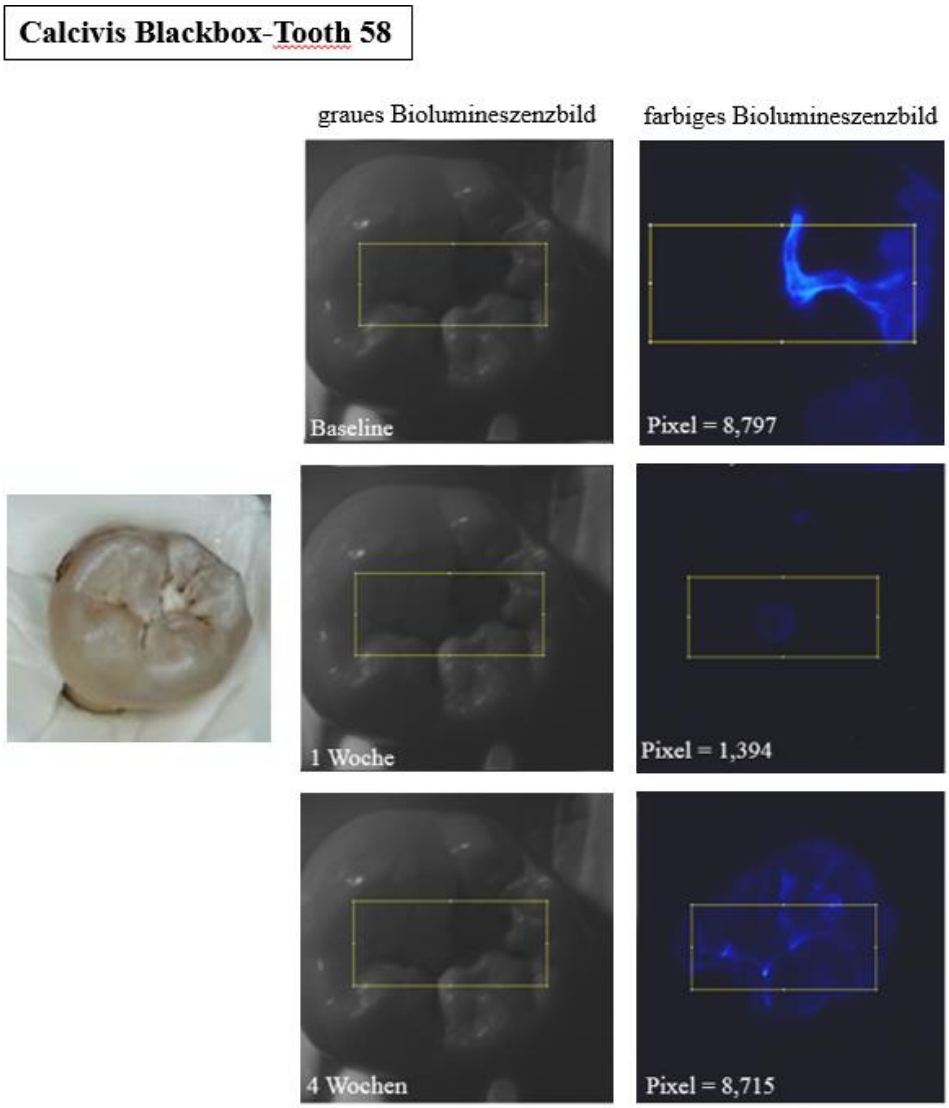

Abbildung 4.8: Aufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche und vier Wochen nach Baseline für Lagerungsmedium B = Chloramin-T. Die Zahnprobe zeigt eine Initialläsion. In den Bildern der farbigen Biolumineszenz wurden in den zu untersuchenden Bereichen Pixelwerte errechnet. Die schwankenden Pixelwerte zeigen eine steigende Aktivität der Karies zum Zeitpunkt Baseline und vier Wochen danach.

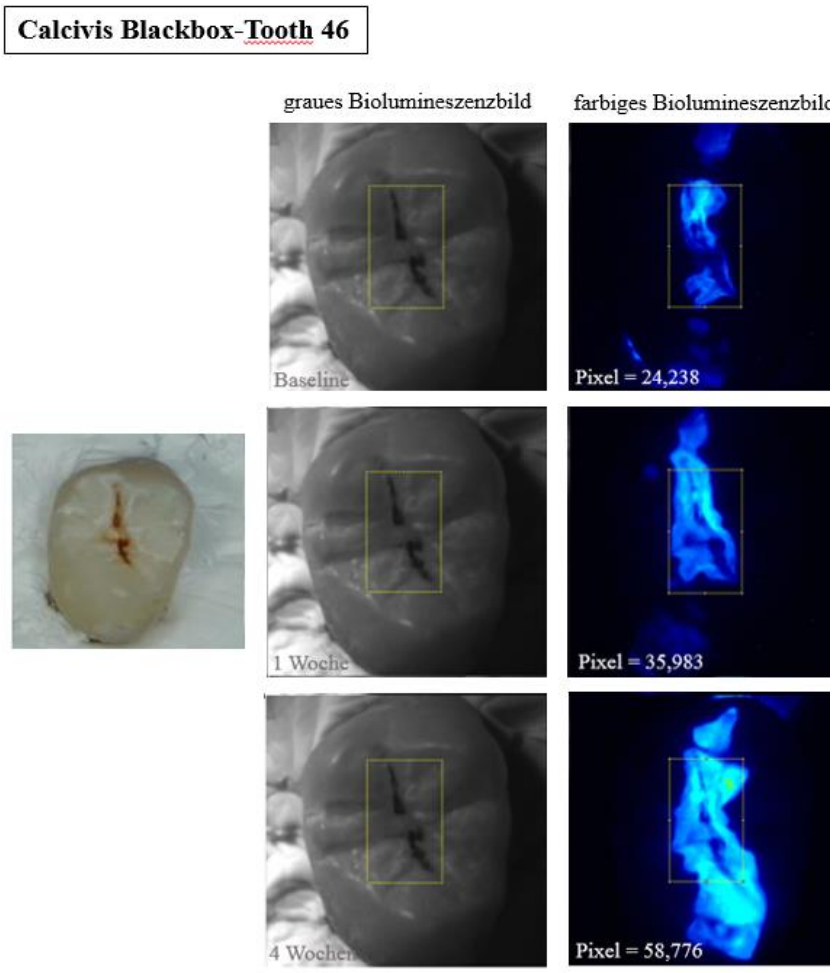

Abbildung 4.9: Aufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche und vier Wochen nach Baseline für Lagerungsmedium C = Einfrieren bei -20° C. Die Zahnprobe zeigt eine moderate Läsion. In den Bildern der farbigen Biolumineszenz wurden in den zu untersuchenden Bereichen Pixelwerte errechnet. Die Pixelwerte zeigen eine steigende Aktivität der Karies im Zeitverlauf.

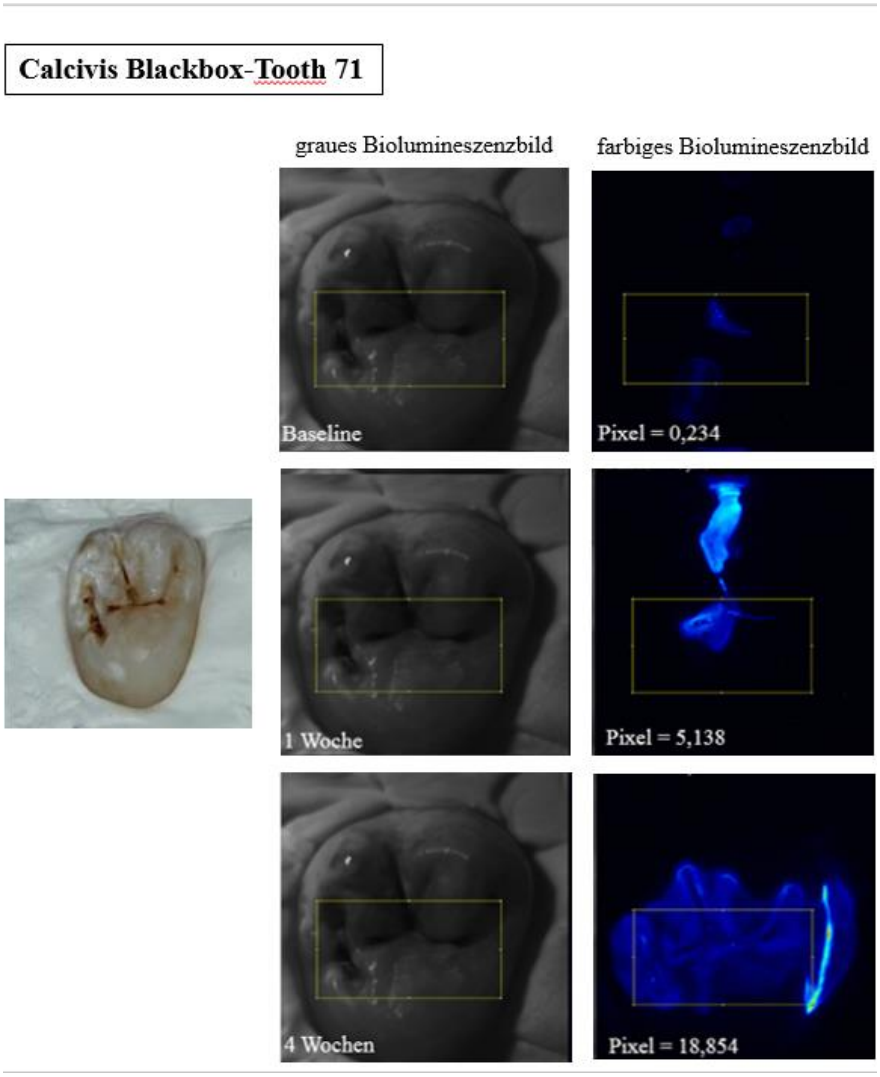

Abbildung 4.10: Aufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche und vier Wochen nach Baseline für Lagerungsmedium C = Einfrieren bei -20° C. Die Zahnprobe zeigt eine moderate Läsion. In den Bildern der farbigen Biolumineszenz wurden in den zu untersuchenden Bereichen Pixelwerte errechnet. Die Pixelwerte zeigen eine steigende Aktivität der Karies im Zeitverlauf.

4.5 Erfassung der Daten und statistische Auswertung

Die Messwerte wurden in Microsoft Excel eingefügt und die Analyse mit MedCalc 19.1.7 durchgeführt.

4.5.1 Shapiro-Wilk-Test

Zur Überprüfung der Normalverteilung der Daten wurde der Shapiro-Wilk-Test herangezogen, der die Grundvoraussetzung für die Anwendung von parametrischen und nicht-parametrischen Tests darstellt.

4.5.2 Spearman´s Rangkorrelationskoeffizient

Der Spearman´s Rangkorrelationskoeffizient wurde berechnet, um den Zusammenhang zwischen der visuellen Befundung, die durch die ICDAS-Codes bestimmt wurde, und der Kariesaktivität mit der Biolumineszenzmessung zu ermitteln. Die Werte können zwischen -1 bis +1 liegen, wobei der Wert Richtung 0-1 eine starke Korrelation, 0 keine Korrelation und -1 eine gegenläufige Korrelation bezeichnen. Nach *Ricketts et al.* [1998] lassen sich die Befunde mit dem Korrelationskoeffizienten veranschaulichen; daraus ergibt sich wie folgt:

rs: 0-0,3 = eine niedrige Korrelation
rs: 0,3-0,7 = eine moderate Korrelation
rs: 0,7-1 = eine hohe Korrelation

4.5.3 Kruskal-Wallis-Test

Da die Daten keine normale Verteilung aufwiesen, wurde der Kruskal-Wallis-Test hinzugezogen. Es handelt sich dabei um einen nicht-parametrischen statistischen Test, mit dem zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche nach Baseline und vier Wochen nach Baseline festgestellt werden konnte, ob es innerhalb der Gruppen A-C zu Unterschieden zwischen den Biolumineszenzmessungen kam. Um die Ergebnisse zu veranschaulichen, wurden die Mediane der einzelnen Gruppen zu den oben genannten Zeitpunkten einander gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 0{,}05$ eingestellt.

4.5.4 Friedman-Test

Zur Untersuchung der Veränderung der Biolumineszenz im Zeitverlauf in jeder einzelnen Gruppe wurde der Friedman-Test eingesetzt, um die Signifikanz der Veränderung zu erfassen. Mit Hilfe multipler Vergleiche konnten anschließend Unterschiede innerhalb der einzelnen Lagerungsgruppen verifiziert werden.

4.5.5 Kreuztabellen

Um die Verteilung der Häufigkeiten verschiedener Merkmalsprägungen zu veranschaulichen, wurden in dieser Studie Kreuztabellen angefertigt. Für jede Kreuztabelle wurden die Befunde der Biolumineszenz-Baselinemessung für sämtliche Zähne sowie die Ergebnisse der verschiedenen Lagerungsmedien A-C den ICDAS-Befunden gegenübergestellt. Wie bereits erläutert, kennzeichnet ICDAS Code 0 einen gesunden Zahn, Code 1-2 eine initiale Läsion und Code 3-4 eine moderate Läsion. Bei den Ergebnissen der Biolumineszenzmessung entsprach Code 1 einer aktiven Läsion und Code 0 einer inaktiven Läsion. Anschließend wurden die Zusammenhänge mit dem Chi-Quadrat (X^2)-Test analysiert, der im Folgenden erläutert wird.

4.5.6 McNemar (Chi-Quadrat)

Die Veränderungen der Ergebnisse der drei Untersuchungen zum Zeitpunkt Baseline, eine Woche nach Baseline und vier Wochen nach Baseline durch CALCIVIS (ja/nein Entscheidung) und ICDAS wurden aufgrund der dichotomen Ausprägung und der Abhängigkeit der Messreihen voneinander durch den Vierfeldertest nach McNemar untersucht.

4.5.7 Box-Plot

Ein Box-Plot ist ein Diagramm, das die Lage- und Streuungsmaße gesammelter Daten übersichtlich zusammenfasst. Es besteht aus einer Box, in der sich die mittleren 50 % der Daten befinden. Die Box wird durch das untere und obere Quartil begrenzt. Aus der Differenz der zwei Quartile wird der Interquartilsabstand (IQR) gebildet, der das Maß für die Streuung der Daten ist. Eine waagerechte Linie in der Box teilt diese in zwei Hälften, in denen sich jeweils 50 % der Daten befinden. Diese Linie steht für den Median der Datenverteilung. An der oberen und unteren Begrenzung der Box sind die

Antennen, die Whisker, angebracht; sie verbinden die Box mit dem Minimum und dem Maximum der Werte. Sie repräsentieren die Daten, die unterhalb oder oberhalb der Werte in der Box gemessen werden. Es ergeben sich Grenzwerte für die Addition des 1,5-fachen des IQR-Wertes zum oberen Quartilswert bzw. der Subtraktion vom unteren Quartilswert. Der kleinste berechenbare Wert aus den vorliegenden Daten liegt im Bereich $X_{0,25}$ – 1,5-mal IQR, der größte Wert liegt im Bereich $X_{0,75}$ + 1,5-mal IQR. Werte innerhalb des Datensatzes, die über $X_{0,75}$ + 1,5 oder unter $X_{0,25}$ – 1,5 angesiedelt sind, werden als Ausreißer bezeichnet und mit einem Dreieck oder einem Viereck gekennzeichnet. Mit Box-Plots können Informationen über mögliche Ausreißer, das Zentrum und die Streuung der Daten gewonnen werden.

5 Ergebnisse

5.1 Visuelle Befundung

Zuerst wurde die visuelle Befundung durch die Kriterien nach ICDAS, die in Kapitel 2.2.1 näher beschrieben wurden, kategorisiert. Dabei stellt Code 0 eine kariesfreie Fläche dar, 1-2 eine Initialläsion und 3-4 eine moderate Läsion. Zur Gegenüberstellung der Ergebnisse aus der mit ICDAS erfolgten visuellen Untersuchung und der Ergebnisse der Messung durch das Biolumineszenzverfahren (ja/nein Entscheidung) wurden Kreuztabellen verwendet. Insgesamt wurden 72 Molaren der zweiten Dentition okklusal untersucht und daraufhin jeweils in den verschiedenen Gruppen A = destilliertes Wasser, B = Chloramin-T und C = Einfrieren gelagert. In der Tabelle 5.1 sind die von beiden Systemen als gesund klassifizierten Zähne mit grüner Hintergrundfarbe hinterlegt; Zähne, die von beiden Systemen als aktive Läsion erfasst wurden, sind mit blauer Hintergrundfarbe unterlegt. Aus der Kreuztabelle ergibt sich, dass mit ICDAS 28 Zähne mit inaktiver Schmelzoberfläche detektiert wurden, von denen 27 Zähne von beiden Systemen als gesund eingestuft wurden. Von den 44 durch ICDAS validierten kariösen Läsionen wurden 40 Zähne von beiden Systemen mit aktiver Schmelzoberfläche erfasst (Tabelle 5.1). Zur Darstellung der Übereinstimmung beider Systeme wurden weitere Kreuztabellen für die Lagerungsmedien A-C erstellt (Tab. 5.2-5.4).

Tabelle 5.1: Kreuztabelle Schmelzoberflächenaktivität nach ICDAS und CALCIVIS für alle Zähne

CALCIVIS Baseline	Aktivität (visuell)		Gesamt
	0	1	
0	27 (96,4 %)	4 (9,1 %)	31
1	1 (3,6 %)	40 (90,9 %)	41
Gesamt	28	44	72

Tabelle 5.2: Kreuztabelle Schmelzoberflächenaktivität nach ICDAS und CALCIVIS für Gruppe A = destilliertes Wasser

CALCIVIS Baseline	Aktivität A		Gesamt
	0	1	
0	9 (90 %)	1 (7,1 %)	10
1	1 (10 %)	13 (92,9 %)	14
Gesamt	10	14	24

Tabelle 5.3: Kreuztabelle Schmelzoberflächenaktivität nach ICDAS und CALCIVIS für Gruppe B = Chloramin-T

	Aktivität B		
CALCIVIS Baseline	0	1	Gesamt
0	8 (100 %)	3 (18,8 %)	11
1	0 (0 %)	13 (81,2 %)	13
Gesamt	8	16	24

Tabelle 5.4: Kreuztabelle Schmelzoberflächenaktivität nach ICDAS und CALCIVIS für Gruppe C = Einfrieren bei -20° C

CALCIVIS Baseline	Aktivität C		Gesamt
	0	1	
0	10 (100 %)	0 (0 %)	10
1	0 (0 %)	14 (100 %)	14
Gesamt	10	14	24

Die Kreuztabellen 5.1-5.4 zeigen die prozentuale Übereinstimmung zwischen den ICDAS-Messwerten und den Ergebnissen der Biolumineszenzmethode. Die Übereinstimmung beider Systeme bei der Detektion inaktiver Zahnoberflächen beträgt für alle Zähne 96,4 %, bei Lagerungsmedium A = destilliertes Wasser 90 %, bei B = Chloramin-T 100 % und bei C = Einfrieren bei -20° C 100 %. Die Übereinstimmung beider Systeme für die Detektion aktiver Läsionen beträgt für alle Zähne 90,9 %, bei Lagerungsmedium A = destilliertes Wasser 92,9 %, bei B = Chloramin-T 81,2 % und bei C = Einfrieren bei - 20° C 100 %.

Aus den Tabellen 5.2-5.4 ist zusammenfassend zu entnehmen, dass zum Zeitpunkt der Baselinemessung das Lagerungsmedium C die höchste Übereinstimmung (100 %) zwischen den beiden Methoden aufwies. Durch den Chi-Quadrat-Vierfeldertest nach McNemar konnte jedoch ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen ICDAS und dem Biolumineszenzverfahren bei der Aktivitätsmessung nach einwöchiger Lagerung bei -20° C festgestellt werden (p = 0,031). Dieser Unterschied ist Tabelle 5.5 zu entnehmen.

Tabelle 5.5: Vierfeldertest nach McNemar. Kreuztabelle Schmelzoberflächenaktivität nach ICDAS und CALCIVIS für Gruppe C = Einfrieren nach einer Woche

Aktivität C	CALCIVIS 1 Woche - C		Gesamt
	0	1	
0	4	6	10
1	0	14	14
Gesamt	4	20	24

5.2 Spearman‘s Rangkorrelationskoeffizient

In den nachfolgenden Tabellen sind die Korrelationskoeffizienten nach Spearman für die Messergebnisse mit dem biolumineszenzbasierten Verfahren den Messergebnissen mit ICDAS gegenübergestellt.

Tabelle 5.6: Korrelation zwischen der visuellen Aktivitätsmessung und den Biolumineszenzmessungen zum Zeitpunkt Baseline für alle 72 Zähne, destilliertes Wasser, Chloramin- T und Einfrieren bei -20° C

Spearman´s Rangkorrelationskoeffizient	
ICDAS	CALCIVIS
Alle Zähne (n = 72)	0,86
A = Destilliertes Wasser	0,83
B = Chloramin-T	0,77
C = Einfrieren	1,0

Die Befunde, die visuell mit ICDAS erhoben wurden, und die Ergebnisse der Messwerte durch das Biolumineszenzverfahren korrelieren signifikant im hohen Bereich (rs = 0,86). Die höchste Korrelation zwischen der visuellen Aktivitätsmessung und den Biolumineszenzmessungen konnte zum Zeitpunkt der Baselinemessung für C = Einfrieren bei -20° C validiert werden (rs = 1,0).
Weiterhin konnte eine signifikant hohe Korrelation beider Systeme für A = destilliertes Wasser (rs = 0,83) und für B = Chloramin-T verzeichnet werden (rs = 0,77).

Somit kann Hypothese 1 angenommen werden, dass die mit ICDAS ermittelten Befunde mit den Biolumineszenzmessungen positiv korrelieren.

5.3 Vergleich der Lagerungsgruppen zum gleichen Messzeitpunkt

Für jeden Messzeitpunkt wurden die aufgeführten Mediane der Biolumineszenzmessung mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests verglichen. In Tabelle 5.7 werden die Ergebnisse der Pixelwerte einander gegenübergestellt.

Tabelle 5.7: Mediane der Lagerungsgruppen über den Zeitverlauf von vier Wochen

Lagerungsgruppe	Baseline	1 Woche	4 Wochen
Gruppe A	4,096	5,681	6,876
Gruppe B	4,324	1,394	4,330
Gruppe C	2,691	10,521	1,463

Die statistische Analyse zeigte keine signifikanten Unterschiede der Pixelwerte zum Zeitpunkt der Baselinemessung zwischen den drei Lagerungsgruppen ($p = 0,27$).
Dies bestätigen auch die Ergebnisse der Biolumineszenz-Baselinemessung (ja/nein Entscheidung) aus Tabelle 5.1.
Nach einer Woche zeigten die Pixelwerte signifikant hohe Unterschiede an ($p < 0,0001$). Dabei unterschieden sich die Gruppen A = destilliertes Wasser, B = Chloramin-T und C = Einfrieren bei -20° C signifikant voneinander. Auch das Ergebnis nach vier Wochen zeigt signifikante Unterschiede zwischen den Lagerungsmedien A und C ($p = 0,032$).

Somit kann Hypothese 2, dass zwischen den drei Lagerungsgruppen keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Biolumineszenzmessung auftreten, nur für den Zeitpunkt der Baselinemessung angenommen werden. Für die Zeiträume nach einer Woche und nach vier Wochen muss Hypothese 2 abgelehnt werden, da zum Zeitpunkt der Messung signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen validiert wurden.

5.4 Vergleich der Pixelwerte der einzelnen Lagerungsmedien im Zeitverlauf

Mit Hilfe des Friedman-Tests wurde überprüft, ob eine Veränderung in den einzelnen Lagerungsmedien im Zeitverlauf stattfand. Die in Tabelle 5.7 aufgelisteten Pixelwerte werden im Zeitverlauf gegenübergestellt.
Die Pixelwerte für A = destilliertes Wasser zeigten keine signifikanten Unterschiede im Zeitverlauf ($p = 0,33$).

Somit kann Hypothese 3a angenommen werden, dass sich die Biolumineszenzmesswerte innerhalb der Lagerungsgruppe A = destilliertes Wasser im Zeitverlauf nicht signifikant unterscheiden.

Die Pixelwerte für das Lagerungsmedium B = Chloramin-T zeigten signifikante Unterschiede im Zeitverlauf ($p < 0,0001$). Durch multiple Vergleiche konnten Unterschiede zwischen den Pixelwerten festgestellt werden. Dabei unterschieden sich die Werte nach einer Woche nach Baseline von den Ergebnissen der Baselinemessung und von den Werten nach vier Wochen nach Baseline.

Hypothese 3b, welche besagt, dass die Biolumineszenzmesswerte innerhalb der Lagerungsgruppe B = Chloramin-T im Zeitverlauf keine signifikanten Unterschiede aufweisen, muss abgelehnt werden.

In der Lagerungsgruppe C = Einfrieren bei -20° C konnten signifikante Unterschiede bei den Pixelwerten zu den verschiedenen Zeitpunkten festgestellt werden ($p < 0{,}0001$). Die Pixelwerte für Gruppe C unterschieden sich wie bei Gruppe B für den Zeitraum von einer Woche nach Baseline von Baseline und ebenso für den Zeitraum von einer Woche nach Baseline von vier Wochen nach Baseline.

Hypothese 3c, welche besagt, dass die Biolumineszenzmesswerte innerhalb der Lagerungsgruppe C = Einfrieren bei -20° C im Zeitverlauf keine signifikanten Unterschiede aufweisen, muss abgelehnt werden.

5.5 Zusammenfassung der Ergebnisse im Zeitverlauf

Abbildung 5.1 stellt die Box-Plots der einzelnen Lagerungsmedien im Zeitverlauf dar.

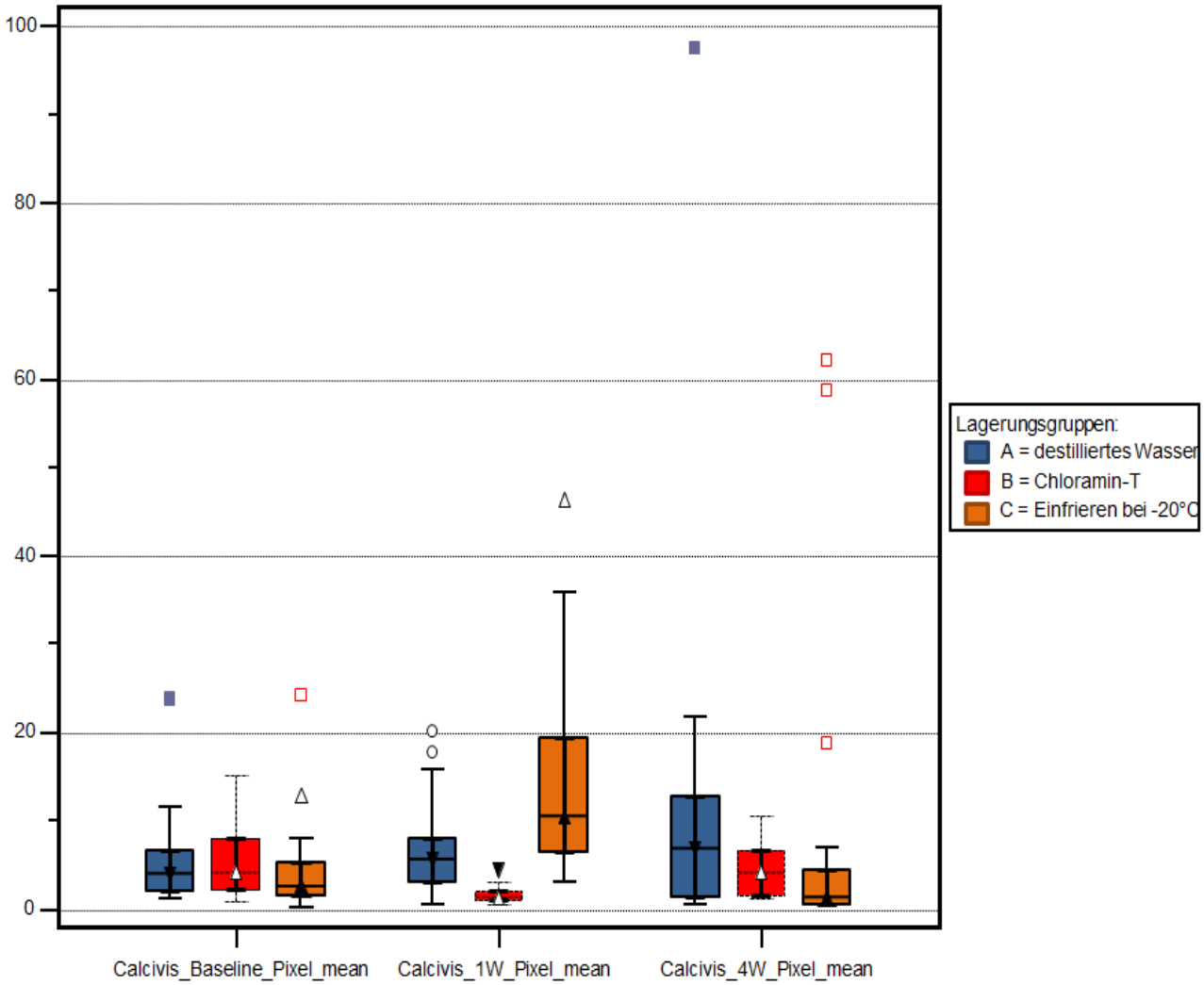

Abbildung 5.1: Box-Plot-Diagramm der unterschiedlichen Lagerungsmedien im Zeitverlauf

Abbildung 5.1 stellt ein Box-Plot-Diagramm dar, das die Gesamtübersicht aller durch die Pixelberechnungen ermittelten Messergebnisse in einer Grafik zeigt. Mithilfe der Pixelberechnung wurde das Biolumineszenzverhalten im Zeitverlauf von vier Wochen und zwischen den Lagerungsmedien zu Baseline, eine Woche nach Baseline und vier Wochen nach Baseline untersucht. Dabei gilt: je höher der Pixelwert ausfällt, desto höher ist die Aktivität an der Läsionsoberfläche. Der Legende der Abbildung ist zu entnehmen, dass die Lagerungsmedien A in blauer Farbe, B in roter Farbe und C orangefarben markiert sind. Die Mediane der Gruppe A zeigen eine Zunahme im Zeitverlauf. Diese Zunahme der Pixelwerte können am IQR des Box-Plots abgelesen werden. Abbildung 5.1 veranschaulicht, dass in der Lagerungsgruppe A = destilliertes

Wasser keine signifikanten Abweichungen in den Medianwerten im zeitlichen Verlauf festzustellen sind ($p = 0,33$). Das Diagramm zeigt auch, dass sowohl Gruppe B = Chloramin-T als auch Gruppe C = Einfrieren signifikante Abweichungen der Medianwerte im Zeitverlauf aufweisen ($p < 0,0001$). Zusätzlich erkennt man, dass die Mediane der Lagerungsgruppen A-C zum Zeitpunkt von Baseline keine statistisch signifikanten Unterschiede aufweisen ($p = 0,27$). Nach einer Woche nach Baseline ($p < 0,0001$) und nach vier Wochen nach Baseline ($p = 0,032$) sind statistisch signifikante Unterschiede der Mediane zwischen den Gruppen festzustellen.
Nach einer Woche nach Baseline wurde in der Lagerungsgruppe B = Chloramin-T ein Ausreißer gemessen, der sich außerhalb der Whisker befand und hier in Form eines Dreiecks markiert ist. Dies betrifft auch Gruppe A zum Zeitpunkt Baseline und zum Zeitpunkt eine Woche nach Baseline. Das gleiche gilt für Gruppe C zum Zeitpunkt Baseline und zu den Zeitpunkten eine Woche nach Baseline und vier Wochen nach Baseline.

5.6 Zusammenfassung der Hypothesen

Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie können folgende Hypothesen angenommen werden:

Hypothese 1: Die durch ICDAS ermittelten Befunde korrelieren positiv mit den Werten der Biolumineszenzmessung.

Hypothese 2: Zwischen den drei Lagerungsgruppen gibt es keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Biolumineszenzmessung (zutreffend nur für den Zeitpunkt Baseline).

Hypothese 3a: Die Biolumineszenzmesswerte innerhalb der Gruppe A = destilliertes Wasser unterscheiden sich nicht signifikant im Zeitverlauf.

Folgende Hypothesen in dieser Studie müssen abgelehnt werden:

Hypothese 3b: Die Biolumineszenzmesswerte innerhalb der Gruppe B = Chloramin-T unterscheiden sich nicht signifikant im Zeitverlauf.

Hypothese 3c: Die Biolumineszenzmesswerte innerhalb der Gruppe C = Einfrieren bei -20° C unterscheiden sich nicht signifikant im Zeitverlauf.

6 Diskussion

6.1 Diskussion der Problemstellung

Wie bereits in Kapitel 1 beschrieben, ist in den letzten Jahren ein deutlicher Rückgang der Karies zu verzeichnen [Jordan et al. 2019]. Die Detektion einer Karies gehört zum Alltag im Berufsleben einer Zahnärztin oder eines Zahnarztes. Dennoch stellt die Kariesdiagnostik für viele Behandelnde eine Herausforderung dar, denn neben einer offensichtlichen Karieserkrankung eines Zahnes treten auch nicht-kavitierte Läsionen auf, die eine intakte Schmelzoberfläche vortäuschen [Ismail et al. 2007, Longbottom et al. 2009].

Durch visuelle Methoden wie dem ICDAS können Läsionen in Codes kategorisiert werden, die eine Einschätzung der Progression einer Karies ermöglichen [Braga et al. 2009]. Allerdings kann es zu einer Überbehandlung initialer nicht aktiver kariöser Läsionen kommen, die mit der visuellen Methode allein nicht ausreichend diagnostiziert werden können. Durch die Digitalisierung auf dem Gebiet der Kariesdiagnostik können neue Technologien eingesetzt werden, die zu einer genaueren Diagnose führen.

Die Herausforderung einer genauen Kariesdiagnostik lässt sich mit dem auf dem Markt eingeführten CALCIVIS Imaging System umgehen. Mit dem Biolumineszenzverfahren ist es möglich, eine aktive Läsion von einer nicht aktiven zu unterscheiden und unterstützt somit die visuell-taktile Begutachtung. Dabei wird ein fotosensitives Protein auf die Oberfläche eines Zahnes aufgebracht, wo es die freiliegenden Kalziumionen bindet, die bei einer aktiven Läsion freigesetzt werden [Larsen 1990, Vogel et al. 1988]. Dabei wird ein blaues Licht emittiert (Biolumineszenz) und eine aktive Läsion kann digitalisiert dargestellt werden.

Die jüngsten Studien zu diesem Verfahren zeigen vielversprechende Ergebnisse bei der Unterscheidung zwischen einer aktiven und einer nicht aktiven Läsion (ja/nein Entscheidung) und in der Reproduzierbarkeit [Jablonski-Momeni und Kneib 2016, Gallie et al. 2017, Martignon et al. 2017, Neuhaus et al. 2017, Vernon et al. 2017, Jablonski-Momeni et al. 2018, Moos 2018].

Auch in klinischen Untersuchungen konnten wesentliche Übereinstimmungen zwischen der Biolumineszenzmessung und der visuell-taktilen Inspektion validiert werden [Jablonski-Momeni et al. 2022].

Bevorzugt werden In-vivo-Studien durchgeführt, jedoch muss eine medizinische Innovation dieser Art hinsichtlich der Gütekriterien (Zuverlässigkeit, Validität, Objektivierung) in vitro geprüft werden. Dazu werden extrahierte Zähne in verschiedenen Medien gelagert. Die Eigenschaften der Zähne sollen sich durch das Lagerungsmedium nicht signifikant verändern, um belastbare klinische Ergebnisse zum Vergleich zu erzielen [Nawrocka und Łukomska-Szymańska 2019].

In dieser Studie wurden 72 menschliche extrahierte und kariöse Zähne der zweiten Dentition auf ihre Biolumineszenzeigenschaften untersucht. Das Ziel dieser Untersuchung war, ein Lagerungsmedium zu finden, das keine Veränderung der Biolumineszenz evoziert und sich dadurch zu wissenschaftlichen Erhebungen mit CALCIVIS eignet.

Darüber hinaus wurde die Korrelation zwischen den Biolumineszenzmesswerten und den ICDAS-Befunden untersucht. Zur Quantifizierung der Biolumineszenz wurden Pixelwerte in einem definierten Bereich berechnet. Die Werte jedes Messzeitpunktes wurden für jede Lagerungsgruppe verglichen und im Zeitverlauf einzeln gegenübergestellt.

6.2 Diskussion von Material und Methode

6.2.1 Auswahl und Lagerung

Im Rahmen dieser Studie wurden 72 extrahierte menschliche Zähne der zweiten Dentition untersucht. Ausgeschlossen wurden Milchzähne, stark zerstörte Zähne und Zähne mit Strukturanomalien. Ferner wurde darauf geachtet, dass die Zähne keine konservierenden Behandlungen wie Füllungen oder Fissurenversiegelungen erfahren hatten.

Die Zähne wurden nach der Extraktion zunächst in einer 0,001%igen Natriumazid-Lösung gelagert und danach gemäß dem Tooth Cleaning Protocol von CALCIVIS gereinigt. Um die Messung der Okklusalfläche zu vereinfachen, wurden die Zähne in Silikonblöcke eingebracht. Diese wurden nach ICDAS in drei Gruppen mit den Codes 0-4 kategorisiert. Die in Gruppen eingeteilten Zähne wurden anschließend in jeweils drei Lagerungsmedien aufbewahrt: A = destilliertes Wasser, B = Chloramin-T und C = Einfrieren bei -20° C.

Mehrere Studien wiesen bereits nach, dass Lagerungsmedien eine Wirkung auf die Eigenschaften (De- und Remineralisation, Permeabilität, Porosität) von Zähnen haben

[Goodis et al. 1991, Moura et al. 2004]. Die Studie von *Francescut et al.* [2006] dokumentierte, dass die Lagerungsmedien Chloramin, Formalin und Thymol bereits nach einigen Wochen die Fluoreszenz der Zähne reduzierten. Nur bei der Gruppe von Zähnen, die bei -20° C eingefroren waren, konnte kein statistisch signifikanter Unterschied der Fluoreszenz nach zwei Jahren dokumentiert werden. Darauf aufbauend wurde dieses Resultat in der 1-Jahres-Studie von *Kaul et al.* [2014] bestätigt. Begründen lässt sich dieses Ergebnis durch die bakterizide Wirkung der oben genannten Lagerungsmedien, die zur Folge haben, dass die Fluorphore verdünnt werden. Damit einhergehend kann dieser Vorgang als Abnahme in der Fluoreszenz validiert werden. Das Einfrieren der Zähne hingegen verursacht eine bakteriostatische Wirkung [Francescut et al. 2006], weshalb kein signifikanter Unterschied in der Fluoreszenz detektiert werden konnte. Für die langfristige Lagerung der Zähne hinsichtlich nicht beeinträchtigter Fluoreszenz-Eigenschaften stellt das Einfrieren nach derzeitigem Kenntnisstand die beste Möglichkeit dar.
Bislang gibt es keine publizierten Studien, die die Wirkung von Lagerungsmedien im Hinblick auf das Biolumineszenzverfahren untersucht haben. Diese Fragestellung wurde erstmalig in der vorliegenden Studie untersucht.

6.2.2 Visuelle Untersuchung

Die Grundlage jeder Kariesdiagnostik stellt die visuelle Untersuchung dar. Dabei ist das frühzeitige Erkennen einer Karies wichtig, um dem Patienten eine minimal-invasive Therapie anbieten zu können. Die noch bis vor kurzem zur Wahl stehenden klassischen Methoden nach der *World Health Organization* [1997], eine Karies zu detektieren, haben ausschließlich die Identifizierung bereits kavitierter Läsionen im Fokus. Zur Behandlung eines Zahnes mit einer weiter fortgeschrittenen Karieserkrankung ist es erforderlich, invasive Maßnahmen zu ergreifen. Jedoch steigt – wie bereits erläutert – die Anzahl von Fällen mit Initialkaries (nicht-kavitierte Karies), so dass eine Methode entwickelt wurde, die die Aktivität und die Einschätzung der Progression der Karies in der Befundung berücksichtigt: das International Caries Detection and Assessment System (ICDAS). Die Befundung nach ICDAS beinhaltet 7 Codes, wobei Code 0 für kariesfrei steht, Code 1-2 für eine Schmelzkaries und Code 3-6 für eine Dentinkaries in unterschiedlichen Stadien [ICDAS Coordinating Committee, 2009]. Hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der

Kariesdiagnose konnte sich das System bereits in mehreren Studien beweisen [Jablonski-Momeni et al. 2008, Diniz et al. 2009, Braga et al. 2010, Gomez et al. 2013]. In der vorliegenden Studie wurde ICDAS als Referenzmethode zur Biolumineszenzuntersuchung herangezogen.

6.2.3 Biolumineszenzmessung mit CALCIVIS

Die in dieser Studie beschriebene Untersuchung wurde mit einem CALCIVIS-Prototyp durchgeführt. Die auf der Zahnoberfläche lokalisierten Kalziumionen werden von einem Fotoprotein gebunden. Dabei wird ein Licht emittiert, das mit einer integrierten Kamera aufgenommen wird. Durch dieses Verfahren können kariöse Läsionen digital visualisiert und mit der Patientin oder dem Patienten in der Praxis besser kommuniziert werden. Die Biolumineszenz gibt des Weiteren eine Einschätzung der Aktivität einer Karies an und ermöglicht dadurch die Therapiemöglichkeiten und den Einsatz minimalinvasiver Behandlungsweisen. Durch die Digitalisierung, die mit ICDAS nicht direkt möglich sind, können die Befunde gesichert und zu Verlaufskontrollen der Karies zum Vergleich herangezogen werden. Bisher zeigen die Untersuchungen mit dem Biolumineszenzverfahren gute Ergebnisse. In der Studie von *Jablonski-Momeni und Kneib* [2016] konnte eine positive Korrelation zur Erfassung der Aktivität einer Karies an bleibenden Zähnen mit Hilfe der Biolumineszenz und der visuellen Methoden festgestellt werden. Eine Studie von *Moos* [2018] erzielte ebenfalls gute Ergebnisse zur Erfassung der Karies. Dabei wurde sowohl die Reproduzierbarkeit des Biolumineszenzverfahrens untersucht als auch eine hohe Korrelation im Hinblick auf die Kariesdiagnose an Milchzähnen mit der visuellen Untersuchung dokumentiert. Weitere In-vitro-Studien zeigen eine signifikant hohe Korrelation zwischen der visuellen Begutachtung der Zähne und der Biolumineszenzmessung [Pitts et al. 2021, Jablonski-Momeni et al. 2018]. Die klinische Umsetzung der oben genannten In-vitro-Studien in einer Untersuchung von *Jablonski-Momeni et al.* [2022] dokumentierte essenzielle Analogien in der Aktivitätsbewertung kariöser Läsionen auf Okklusalflächen zwischen den Befunden durch Cis und der visuellen Inspektion.

Zu der Fragestellung, welches Medium sich wegen eines geringen Biolumineszenzverlustes zur Lagerung von extrahierten Zähnen am besten eignet, gibt es bislang keine Studien.

6.2.4 Studiendesign

Die ideale Rahmenbedingung für eine Studie an extrahierten Zähnen wurde von *Pitts* [2001] beschrieben: eine Zahnextraktion muss durch eine vorherige Untersuchung des Zahnes in vivo ethisch zweifelsfrei vertretbar sein. Die Zähne für diese Studie befanden sich bereits in einem extrahierten Zustand und standen für eine klinische Untersuchung am Patienten nicht mehr zur Verfügung. So konnten wichtige patientenbezogene Faktoren wie das Patientenalter, die Familien- und Sozialanamnese und das allgemeine Kariesrisiko nicht einbezogen werden.
Für diese Studie wurde das In-vitro-Studiendesign ausgewählt, in dem der Studienaufbau so weit wie möglich an die klinische Situation angepasst wird. Nach der Reinigung der Zähne gemäß dem Tooth Cleaning Protocol von CALCIVIS wurden diese in den Lagerungsmedien A = destilliertes Wasser, B = Chloramin-T und C = Einfrieren bei -20° C aufbewahrt. Diese Umgebung entspricht dennoch nicht gänzlich den oralen Bedingungen in der Mundhöhle mit pH-Wertschwankungen und der Anwesenheit von Speichelenzymen. Durch den Einsatz der CALCIVIS Dark Box wurden die Lichtverhältnisse während der Messungen an die Lichtverhältnisse in der Mundhöhle angepasst (Kapitel 4.4). Als Referenz zur Beurteilung der Biolumineszenz wurde ICDAS zur Inspektion der Zähne herangezogen. Histologische Untersuchungen wurden nicht durchgeführt.

6.3 Diskussion der Ergebnisse

6.3.1 Korrelation der Biolumineszenzmessung mit den ICDAS-Befunden

Die Korrelation der ICDAS-Werte mit der Biolumineszenzmessung liegt insgesamt im hohen Bereich (rs = 0,86). Die höchste Korrelation konnte für die Lagerungsgruppe C = Einfrieren bei -20° C festgestellt werden (rs = 1,0). Auch die Gruppe A = destilliertes Wasser (rs = 0,83) und die Gruppe B = Chloramin-T (rs = 0,77) korrelierten im hohen Bereich. Die Hypothese, dass eine signifikant positive Korrelation zwischen der visuellen Aktivitätsmessung und der Biolumineszenzmessung besteht, kann somit angenommen werden. Die erste Kreuztabelle (Tab. 5.1) in Kapitel 5.1 zeigt eine hohe diagnostische Übereinstimmung beider Verfahren bei der Aktivitätsbewertung kariöser Läsionen. Von 28 nach ICDAS als gesund eingestuften Zähnen wurden 27 durch CALCIVIS als inaktive Oberfläche erfasst (96,4 %). Von 44 Zähnen, die laut ICDAS

kariöse Läsionen aufwiesen, konnte in 40 Zähnen eine aktive Läsion durch CALCIVIS validiert werden (90,9 %).

Die Korrelation der visuellen Befundung und der Biolumineszenzmessung wurde bereits klinisch untersucht. So stellten *Jablonski-Momeni et al.* [2022] in einer In-vivo-Studie fest, dass das Cis und die visuelle Befundung einer aktiven Karies eine wesentliche Übereinstimmung im Zeitraum von 12 Monaten ergaben ($\kappa = 0{,}77$).

In einer weiteren Studie von *Jablonski-Momeni et al.* [2018] wurde die Korrelation von 94 bleibenden Zähnen histologisch, visuell und durch CALCIVIS untersucht. Nach der visuellen Inspektion, der Untersuchung auf Biolumineszenz und der histologischen Untersuchung konnten hohe Übereinstimmungen bei den κ-Werten nachgewiesen werden ($\kappa = 0{,}802$-$0{,}917$). Über alle Verfahren hinweg konnte eine signifikant positive Korrelation validiert werden ($rs = 0{,}618$-$0{,}811$). Für die Aktivitätsmessung unter histologischer Untersuchung lagen eine Sensitivität und Spezifität für ICDAS bei SE = 83,6 % bzw. SP = 85 % und für die Biolumineszenzmethode bei SE = 92,5 % bzw. SP = 90 % vor. Signifikante Unterschiede zwischen der visuellen Befundung und der Biolumineszenzmessung konnten nicht gemessen werden ($p = 0{,}094$). Damit zeigt sich eine hohe In-vitro-Reproduzierbarkeit und eine hohe diagnostische Genauigkeit für die Aktivitätsbewertung kariöser Läsionen mit der Biolumineszenzmethode.

In der Studie von *Moos* [2018] wurde die Korrelation zwischen visuellen Untersuchungsmethoden und Biolumineszenzverfahren an Milchzähnen überprüft. Die Untersuchung ergab gute Ergebnisse zur Erfassung der Kariesaktivität an Milchzähnen ($p = 0{,}47$).

Pitts et al. [2021] untersuchten die Übereinstimmung zwischen visuell-taktilen Methoden und dem Cis. Von 90 durch visuelle Inspektion ermittelten gesunden Zähnen wiesen 88 über Cis keine Lumineszenz auf. Dies entspricht einer Übereinstimmung von 97,8 %. Eine 90,7%ige Übereinstimmung ergab sich für Zähne mit einer aktiven Läsion, von denen 86 Zähne als visuell kariös und 78 Zähne durch Cis als aktive Läsion erfasst wurden.

Die Ergebnisse der oben aufgeführten Studien zeigen durch eine hohe Übereinstimmung zwischen dem Cis und der visuellen Befundung, dass aktive von inaktiven Läsionen mit vielversprechender Genauigkeit voneinander unterschieden werden können. Dies macht den klinischen Einsatz von CALCIVIS zuverlässig und sicher.

6.3.2 Ergebnisse aus den Gruppen- und Zeitverlaufsvergleichen

Zwischen den drei Lagerungsgruppen konnten zum Zeitpunkt der Baselinemessung keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p = 0{,}27$). Nach einer Woche ($p < 0{,}0001$) und nach vier Wochen ($p = 0{,}032$) nach Baseline konnten signifikante Unterschiede verzeichnet werden. Deutlich erkennbar wird dies durch die schwankenden Pixelwerte bei den Gruppenvergleichen (Tab. 5.7). Dabei unterschieden sich nach einer Woche nach Baseline sämtliche Gruppen voneinander, nach vier Wochen nach Baseline unterschieden sich die Gruppe A = destilliertes Wasser und die Gruppe C = Einfrieren bei -20° C voneinander.

Mit Hilfe des Friedman-Tests wurden innerhalb einer Lagerungsgruppe die variierten Pixel-Werte im Zeitverlauf verglichen, die teilweise Messdifferenzen aufzeigten. Für die Lagerungsgruppe A = destilliertes Wasser wurde im zeitlichen Verlauf ein statistisch nicht signifikanter Anstieg der Pixelwerte validiert ($p = 0{,}33$). Für die Gruppe B = Chloramin-T wurde ein signifikanter Unterschied erfasst ($p < 0{,}0001$). Der Pixel-Wert sank nach einer Woche nach Baseline im Vergleich zum Zeitpunkt der Baselinemessung und zeigte nach vier Wochen nach Baseline durch ansteigende Pixelwerte vermehrt Aktivität. Bei Gruppe C = Einfrieren der Zähne bei -20° C wurde ein statistisch signifikanter Anstieg der Pixelwerte nach einer Woche nach Baseline und ein Rückgang der Werte nach vier Wochen nach Baseline gemessen ($p < 0{,}0001$). Auch hier zeigte sich eine erhöhte Aktivität zum Messzeitpunkt eine Woche nach Baseline und eine verminderte Aktivität zum Messzeitpunkt vier Wochen nach Baseline.

Frühere Studien zeigten, dass beim Einfrieren der Zähne der geringste Fluoreszenzabfall zu erwarten ist [Francescut et al. 2006, Kaul et al. 2014]. Da sich dieses Medium bereits in vielen Studien als zuverlässig erwiesen hatte, ist es denkbar, dass die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung Messungenauigkeiten geschuldet sind. Möglicherweise waren die Zähne zu lange der Raumtemperatur ausgesetzt oder sie wurden nicht ausreichend oder zu stark getrocknet. Vorstellbar ist auch eine erhöhte Ansammlung von Feuchtigkeit an der Messoberfläche bei der Abkühlung auf Raumtemperatur. Bei dem Lagerungsmedium Chloramin-T wurde in der Studie von *Francescut et al.* [2006] ebenfalls ein signifikanter Unterschied der LF-Werte zwischen dem 7. und dem 14. Tag gemessen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass in der vorliegenden Studie das Lagerungsmedium A = destilliertes Wasser gute Ergebnisse lieferte und sich für die

Lagerung extrahierter Zähne für Biolumineszenzmessungen am besten eignet. Chloramin-T und Einfrieren bei -20° C hingegen eignen sich aufgrund der schwankenden Pixelwerte und des dadurch unregelmäßigen Biolumineszenzverhaltens nicht zur Lagerung von extrahierten Zähnen.

6.4 Schlussfolgerung und Relevanz für zukünftige Studien

In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss von Lagerungsmedien auf das Biolumineszenzverhalten an gesunden sowie an kariösen Zähnen untersucht. Zudem wurde die Korrelation der visuellen Kariesdetektion nach ICDAS und die Aktivitätserfassung einer Läsion mit dem Biolumineszenzverfahren ermittelt. Die extrahierten Zähne wurden zunächst visuell und anschließend digital untersucht. In dieser Studie korrelieren die Ergebnisse beider Verfahren signifikant im hohen Bereich. Bereits in früheren Studien erwiesen sich die Reproduzierbarkeit sowie die Erfassung der Kariesaktivität mit dem Biolumineszenzverfahren mit hoher Genauigkeit als geeignet für den klinischen Einsatz [Jablonski-Momeni und Kneib 2016, Jablonski-Momeni et al. 2018, Moos 2018, Pitts et al. 2021]. Die Suche nach einem geeigneten Lagerungsmedium für extrahierte und kariöse Zähne ergab in dieser Studie keine signifikante Veränderung der Biolumineszenz für destilliertes Wasser (Gruppe A) im Zeitverlauf. Dieses Medium kann zur Lagerung kariöser Zähne zur Erforschung der Biolumineszenz für zukünftige Studien empfohlen werden. Aufgrund statistisch signifikanter Veränderungen der Biolumineszenz und der dadurch verfälschten Ergebnisse wird eine Lagerung von extrahierten Zähnen in den Medien Chloramin-T und Einfrieren bei -20° C nicht empfohlen.

Die Empfehlung für den Praxisalltag ist eine kombinierte Anwendung aus beiden Systemen. Dabei soll das Biolumineszenzverfahren die visuell-taktile Befundung bei der Kariesdiagnostik unterstützen. Durch die Digitalisierung der Befunde kann den Patientinnen und Patienten die Diagnose sowie die Notwendigkeit einer Behandlung deutlich kommuniziert werden. So kann eine invasive Therapie vermieden werden und der minimalinvasive Therapieansatz sowie die Zahnerhaltung rücken mehr in den Vordergrund.

Die Forschung über die Suche nach einem geeigneten Lagerungsmedium zur biolumineszenzbasierten Kariesdiagnostik ist eine wissenschaftlich relevante Frage.

So kann das Risiko von Fehlmessungen an frisch extrahierten Zähnen verringert werden, indem diese nach einer Zahnextraktion in geeignete Lagerungsmedien

verwahrt werden. Weitere Studien dieser Art sind notwendig, um Lagerungsmedien über einen Zeitraum von mehr als vier Wochen zu untersuchen. Weitere Lagerungsmedien müssen untersucht werden, um zu validieren, ob ein Einfluss auf die Biolumineszenzmessungen nachgewiesen werden kann. Auch eine Kombinationsstudie, in der die Zähne zunächst in vivo und anschließend in vitro untersucht werden, bietet gewiss ein aufschlussreiches Forschungsfeld.

7 Zusammenfassung

7.1 Zusammenfassung auf Deutsch

Einfluss von verschiedenen Lagerungsmedien auf Biolumineszenzmessungen- eine In-vitro-Studie

Ziel: Das Ziel dieser Studie war es, das Biolumineszenzverhalten an kariösen Zähnen nach Lagerung in verschiedenen Medien in einem Zeitraum von vier Wochen zu untersuchen. Weiterhin sollte die Korrelation zwischen den Biolumineszenzmessungen durch CALCIVIS® Caries Activity Imaging System und den visuellen Befunden des International Caries Detection and Assessment System untersucht werden.

Material und Methode: Insgesamt wurden 72 extrahierte humane Seitenzähne der zweiten Dentition gereinigt und nach den Kriterien der ICDAS Codes kategorisiert. Jeweils acht Zähne desselben ICDAS Codes wurden in einem der drei Lagerungsmedien A = destilliertes Wasser, B = Chloramin-T und C = Einfrieren bei -20° C verwahrt. Die Messungen mit CALCIVIS (ja/nein Entscheidung) erfolgte zu den Zeitpunkten Baseline sowie eine Woche nach Baseline und vier Wochen nach Baseline. Die gesammelten Daten wurden in MS Excel importiert und anschließend mit MedCalc 19.1.7 ausgewertet. Die Korrelation der Ergebnisse beider Systeme wurden in Kreuztabellen aufgelistet und mittels den Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman (rs) analysiert. Zur Quantifizierung der Biolumineszenzfelder im Zeitverlauf wurden in einem definierten Bereich Pixelwerte berechnet. Messunterschiede in den Pixelwerten zwischen den Lagerungsgruppen sowie innerhalb dieser Gruppen wurden mittels des Kruskal-Wallis-Tests und des Friedman-Tests ermittelt. Die Ergebnisse wurden im Box-Plot dargestellt.

Ergebnisse: Die Befunde der visuellen Inspektion korrelierten mit den Messwerten durch CALCIVIS (ja/nein Entscheidung) signifikant im hohen Bereich für n = 72 Zähne (rs = 0,86). Innerhalb der einzelnen Lagerungsgruppen konnten auch statistisch signifikante Korrelationen validiert werden für A = destilliertes Wasser (rs = 0,83), B = Chloramin-T (rs = 0,77) und C = Einfrieren bei -20° C (rs = 1,0). Die Auswertung für den Kruskal-Wallis-Test zeigt zum Zeitpunkt von Baseline keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (p = 0,27). Die Messwerte der Kreuztabellen zur Erfassung der Schmelzoberflächenaktivität nach ICDAS und CALCIVIS zum Zeitpunkt der Baselinemessung bestätigen die Ergebnisse des Kruskal-Wallis-Tests

noch einmal. Beide Verfahren zeigten eine hohe Übereinstimmung bei der Erfassung aktiver Läsionen: für alle 72 Zähne = 90,9 %, Gruppe A = 92,9 %, Gruppe B = 81,2 % und Gruppe C = 100 %. Ebenfalls ergaben die Messwerte zur Erfassung inaktiver Läsionen hohe Übereinstimmungen: für alle 72 Zähne = 94,6 %, Gruppe A = 90 %, Gruppe B = 100 % und Gruppe C = 100 %. Signifikante Unterschiede konnten nach einer Woche nach Baseline ($p < 0,0001$) und nach vier Wochen nach Baseline ($p < 0,032$) gemessen werden. Nach einer Woche nach Baseline unterschieden sich alle Messwerte aller Lagerungsgruppen voneinander. Die Messung nach vier Wochen nach Baseline ergab Unterschiede zwischen Gruppe A und Gruppe C. Für die Auswertung des Friedman-Tests zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den Pixelwerten für Lagerungsgruppe A = destilliertes Wasser im Zeitverlauf an ($p = 0,33$). Für das Lagerungsmedium B = Chloramin-T konnten signifikante Unterschiede der Pixelwerte im Zeitverlauf validiert werden ($p < 0,0001$). Dabei unterschieden sich die Pixelwerte in Gruppe B von Gruppe A und Gruppe C. Auch für die Lagerungsgruppe C = Einfrieren bei -20° C konnten statistisch signifikante Unterschiede der Pixelwerte im Zeitverlauf verzeichnet werden ($p < 0,0001$).

Diskussion und Schlussfolgerung: Die Ergebnisse dieser Studie zum Vergleich der visuellen Aktivitätsmessung einer Karies nach ICDAS mit den Biolumineszenzmessungen korrelierten signifikant und zeigten eine hohe diagnostische Übereinstimmung zwischen beiden Systemen. Das biolumineszierende Verfahren kann daher in der klinischen Kariesdiagnostik als ergänzendes Hilfsmittel zu den derzeit gängigen Methoden, wie dem ICDAS verwendet werden. Hinsichtlich der Lagerung von extrahierten Zähnen zur Untersuchung des Biolumineszenzverhaltens eignete sich im Rahmen dieser Studie destilliertes Wasser (Gruppe A) am besten. Für die Lagerung von extrahierten Zähnen in Chloramin-T oder das Einfrieren auf -20° C kann keine Empfehlung ausgesprochen werden.

7.2 Zusammenfassung auf Englisch

Influence of different storage media on bioluminescence measurements on teeth- an in-vitro study

Aim: The aim of this study was to investigate the bioluminescence behaviour on carious lesions after a storage in different storage media over a period of four weeks. Furthermore, the correlation between the bioluminescence measurements using the CALCIVIS® Caries Activity Imaging System and the visual findings of the International Caries Detection and Assessment System was examined.

Material and methods: In total 72 extracted human posterior teeth of the permanent dentition were carefully cleaned and categorized according to the criteria of the ICDAS codes. Eight teeth each of the same ICDAS code were stored in one of the three storage media A = distilled water, B = chloramine-T and C = freezing at -20° C. The teeth were measured by CALCIVIS (yes/no decision) at baseline, after one week and after four weeks. The determined data was inserted into MS Excel and analyzed with MedCalc 19.1.7. The correlation between the findings from both systems were listed in cross tables and evaluated by Spearman's rank correlation coefficient (rs). Pixel values were calculated in a defined area to quantify the bioluminescence fields over time. Measurement differences of pixel values between and within the bearing groups were determined by the Kruskal-Wallis test and the Friedman test. The results were presented in box plots.

Results: The visual findings of the ICDAS correlated significantly in a high range with the measured values from CALCIVIS (yes/no decision) for the used 72 teeth (rs = 0.86). Also within the individual storage groups significant correlations could be validated for A = distilled water (rs = 0.83), B = chloramine-T (rs = 0.77) and C = freezing at -20° C (rs = 1.0). The evaluation of the Kruskal-Wallis test shows no significant differences between the groups at the time of baseline ($p = 0.27$). The measured values of the cross tables for recording the enamel surface activity according to ICDAS and CALCIVIS at the time of baseline confirm the results of the Kruskal-Wallis test once again. Both methods show a high level of correlation for detecting carious lesions: for all 72 teeth = 90.9 %, group A = 92.9 %, group B = 81.2 % and group C = 100 %. The measured values for the detection of inactive lesions also showed a high correlation: for all 72 teeth = 94.6 %, group A = 90 %, group B = 100 % and group C = 100 %. Significant differences could be measured after one week ($p < 0.0001$) and four weeks ($p < 0.032$). After one week all measured values of the three

storage groups differed from each other. The measurements after four weeks revealed differences between group A and C. For the evaluation of the Friedman test there were no significant differences in the pixel values for storage group A = distilled water over the time ($p = 0.33$). For the storage group B = chloramine-T significant differences in pixel values over time could be validated ($p < 0.0001$). The pixel values in group B differed from A and C. Additionally significant differences in the pixel values over time could be evaluated for the storage group C = freezing at -20° C ($p < 0.0001$).

Discussion and conclusion: The results of this study between the visual findings according to the ICDAS and the bioluminescence measurements correlated significantly and showed a high diagnostic accordance between the two systems. The bioluminescence method can therefore be used in caries detection as an aid to current clinical methods such as ICDAS. With regard to the storage of extracted teeth for examining the bioluminescence behavior distilled water (group A) was best suited in this study. The storage of extracted teeth in chloramine-T or freezing them at -20° C is not recommended.

8 Literaturverzeichnis

1. Achilleos, E. E.; Rahiotis, C.; Kakaboura, A.; Vougiouklakis, G. (2013): Evaluation of a new fluorescence-based device in the detection of incipient occlusal caries lesions. In: *Lasers in medical science* 28 (1), S. 193–201. DOI: 10.1007/s10103-012-1111-6.

2. Amaechi, B. T.; Higham, S. M.; Edgar, W. M. (1999): The use of gamma irradiation for the sterilization of enamel for intra-oral cariogenicity tests. In: *Journal of oral rehabilitation* 26 (10), S. 809–813. DOI: 10.1046/j.1365-2842.1999.00460.x.

3. Bergman, G.; Lindén, L. A. (1969): The action of the explorer on incipient caries. In: *Svensk tandlakare tidskrift. Swedish dental journal* 62 (10), S. 629–634.

4. Braga, M. M.; Ekstrand, K. R.; Martignon, S.; Imparato, J. C. P.; Ricketts, D. N. J.; Mendes, F. M. (2010): Clinical performance of two visual scoring systems in detecting and assessing activity status of occlusal caries in primary teeth. In: *Caries research* 44 (3), S. 300–308. DOI: 10.1159/000315616.

5. Braga, M. M.; Oliveira, L. B.; Bonini, G. A. V. C.; Bönecker, M.; Mendes, F. M. (2009): Feasibility of the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS-II) in epidemiological surveys and comparability with standard World Health Organization criteria. In: *Caries research* 43 (4), S. 245–249. DOI: 10.1159/000217855.

6. Brauer, D. S.; Saeki, K.; Hilton, J. F.; Marshall, G. W.; Marshall, S. J. (2008): Effect of sterilization by gamma radiation on nano-mechanical properties of teeth. In: *Dental materials: official publication of the Academy of Dental Materials* 24 (8), S. 1137–1140. DOI: 10.1016/j.dental.2008.02.016.

7. Carvalho, J. C.; Ekstrand, K. R.; Thylstrup, A. (1989): Dental plaque and caries on occlusal surfaces of first permanent molars in relation to stage of eruption. In: *Journal of dental research* 68 (5), S. 773–779. DOI: 10.1177/00220345890680050401.

8. Cole, A. S.; Eastoe, J. E. (1977): Biochemistry and oral biology. Bristol: Wright.

9. Diniz, MB; Rodrigues, JA; Hug, I; Cordeiro, RL; Lussi, A: Reproducibility and accuracy of the ICDAS-II for occlusal caries detection. Community Dent Oral Epidemiol 37 (5), 399–404 (2009)

10. Diniz, M. B.; Boldieri, T.; Rodrigues, J. A.; Santos-Pinto, L.; Lussi, A.; Cordeiro, R. C. L. (2012): The performance of conventional and fluorescence-based methods for occlusal caries detection: an in vivo study with histologic validation. In: *Journal of the American Dental Association (1939)* 143 (4), S. 339–350. DOI: 10.14219/jada.archive.2012.0176.

11. Dominici, J. T.; Eleazer, P. D.; Clark, S. J.; Staat, R. H.; Scheetz, J. P. (2001): Disinfection/sterilization of extracted teeth for dental student use. In: *Journal of dental education* 65 (11), S. 1278–1280.

12. Ekstrand, K. R.; Holmen, L.; Qvortrup, K. (1999): A polarized light and scanning electron microscopic study of human fissure and lingual enamel of unerupted mandibular third molars. In: *Caries research* 33 (1), S. 41–49. DOI: 10.1159/000016494.

13. Ekstrand, K. R.; Qvist, V.; Thylstrup, A. (1987): Light microscope study of the effect of probing in occlusal surfaces. In: *Caries research* 21 (4), S. 368–374. DOI: 10.1159/000261041.

14. Ekstrand, K. R. (2004): Improving clinical visual detection--potential for caries clinical trials. In: *Journal of dental research* 83 Spec No C, C67-71. DOI: 10.1177/154405910408301s13.

15. Ekstrand, K. R.; Kuzmina, I.; Bjørndal, L.; Thylstrup, A. (1995): Relationship between external and histologic features of progressive stages of caries in the occlusal fossa. In: *Caries research* 29 (4), S. 243–250. DOI: 10.1159/000262076.

16. Ekstrand, K. R.; Ricketts, D. N.; Kidd, E. A. (1997): Reproducibility and accuracy of three methods for assessment of demineralization depth of the occlusal surface: an in vitro examination. In: *Caries research* 31 (3), S. 224–231. DOI: 10.1159/000262404.

17. Ekstrand, K. R.; Ricketts, D. N.; Kidd, E. A.; Qvist, V.; Schou, S. (1998): Detection, diagnosing, monitoring and logical treatment of occlusal caries in

relation to lesion activity and severity: an in vivo examination with histological validation. In: *Caries research* 32 (4), S. 247–254. DOI: 10.1159/000016460.

18. Ekstrand, K. R.; Zero, D. T.; Martignon, S.; Pitts, N. B. (2009): Lesion activity assessment. In: *Monographs in oral science* 21, S. 63–90. DOI: 10.1159/000224213.

19. Fejerskov, O.; Josephsen, K.; Nyvad, B. (1984): Surface ultrastructure of unerupted mature human enamel. In: *Caries research* 18 (4), S. 302–314. DOI: 10.1159/000260781.

20. Fejerskov, O.; Kidd, E. A. (2007): Dental caries. The disease and its clinical management. Reprint. Oxford: Blackwell Munksgaard.

21. Francescut, P.; Zimmerli, B.; Lussi, A. (2006): Influence of different storage methods on laser fluorescence values: a two-year study. In: *Caries research* 40 (3), S. 181–185. DOI: 10.1159/000092223.

22. Gallie A, Vernon B, Alison S: Evaluation of the Calcivis Imaging System's Ability to Assess Erosive Challenge to Enamel Over Time (Abstract). Caries Res, 2017; 51(4): 307.

23. Gibbons, R. J. (1989): Bacterial adhesion to oral tissues: a model for infectious diseases. In: *Journal of dental research* 68 (5), S. 750–760. DOI: 10.1177/00220345890680050101.

24. Gomez, J; Zakian, C; Salsone, S; Pinto, SCS; Taylor, A; Pretty, IA; Ellwood, R: In vitro performance of different methods in detecting occlusal caries lesions. J Dent 41 (2), 180–186 (2013)

25. Goodis, H. E.; Marshall, G. W.; White, J. M. (1991): The effects of storage after extraction of the teeth on human dentine permeability in vitro. In: *Archives of oral biology* 36 (8), S. 561–566. DOI: 10.1016/0003-9969(91)90105-4.

26. Hansen, N. V.; Nyvad, B. (2017): Non-operative control of cavitated approximal caries lesions in primary molars: a prospective evaluation of cases. In: *Journal of oral rehabilitation* 44 (7), S. 537–544. DOI: 10.1111/joor.12508.

27. Harris, R.; Nicoll, A. D.; Adair, P. M.; Pine, C. M. (2004): Risk factors for dental caries in young children: a systematic review of the literature. In: *Community dental health* 21 (1 Suppl), S. 71–85.

28. Heidemann, D. (Hg.) (2005): Kariologie und Füllungstherapie. Unter Mitarbeit von Jürgen Becker. Studienausg. der 4. Aufl., München, Urban und Schwarzenberg, 1999. [München, Jena]: Elsevier, Urban und Fischer (Praxis der Zahnheilkunde, Bd. 2).

29. Hellwig, E.; Klimek, J.; Attin, T. (2013): Einführung in die Zahnerhaltung. Prüfungswissen Kariologie, Endodontologie und Paradontologie ; mit 63 Tabellen. 6., überarb. Aufl. Köln: Dt. Zahnärzte-Verl.

30. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) Coordinating Committee, Criteria Manual. Bogota, Columbia and Budapest, Hungary 2009. Zugriff am 22.10.2023. Verfügbar unter https://www.iccms-web.com/

31. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS-II) in epidemiological surveys and comparability with standard World Health Organization criteria. In: *Caries research* 43 (4), S. 245–249. DOI: 10.1159/000217855.

32. Ismail, A. I. (2004): Visual and visuo-tactile detection of dental caries. In: *Journal of dental research* 83 Spec No C, C56-66. DOI: 10.1177/154405910408301s12.

33. Ismail, A. I.; Sohn, W.; Tellez, M.; Amaya, A.; Sen, A.; Hasson, H.; Pitts, N. B. (2007): The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. In: *Community dentistry and oral epidemiology* 35 (3), S. 170–178. DOI: 10.1111/j.1600-0528.2007.00347.x.

34. Jablonski-Momeni, A.; Stachniss, V.; Ricketts, D. N.; Heinzel-Gutenbrunner, M.; Pieper, K. (2008): Reproducibility and accuracy of the ICDAS-II for detection of occlusal caries in vitro. In: *Caries research* 42 (2), S. 79–87. DOI: 10.1159/000113160.

35. Jablonski-Momeni, A.; Jablonski, B.; Heinzel-Gutenbrunner, M.; Korbmacher-Steiner, H. (2022): Agreement of Bioluminescence Measurements and Visual Assessment in Monitoring Occlusal Surfaces of Permanent Teeth. In: *Journal of clinical medicine* 11 (2). DOI: 10.3390/jcm11020464.

36. Jablonski-Momeni, A.; Kneib, L. (2016): Assessment of caries activity using the Calcivis Caries Activity Imaging System. In: *The Open Access Journal of Science and Technology* 4. DOI: 10.11131/2016/101241.

37. Jablonski-Momeni, A.; Moos, J.; Sakhaei M. V.; Stoll, R. (2018): Diagnostic Accuracy of a Bioluminescence System for the Assessment of Caries Activity on Occlusal Surfaces. In: *Caries research* 52 (4), S. 279–287. DOI: 10.1159/000486139.

38. Jablonski-Momeni, A.; Sambale, J.; Gaerttner, L.; Nothelfer, R.; Korbmacher-Steiner, H. (2021): Einsatz eines Biolumineszenzverfahrens zur Detektion artifiziell erzeugter Demineralisationen an der Bracketzirkumferenz. In: *Journal of orofacial orthopedics = Fortschritte der Kieferorthopädie: Organ/official journal Deutsche Gesellschaft fur Kieferorthopadie*. DOI: 10.1007/s00056-021-00341-y.

39. Jordan, R. A.; Krois, J.; Schiffner, U.; Micheelis, W.; Schwendicke, F. (2019): Trends in caries experience in the permanent dentition in Germany 1997-2014, and projection to 2030: Morbidity shifts in an aging society. In: *Scientific reports* 9 (1), S. 5534. DOI: 10.1038/s41598-019-41207-z.

40. Kassebaum, N. J.; Bernabé, E.; Dahiya, M.; Bhandari, B.; Murray, C. J. L.; Marcenes, W. (2015): Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. In: *Journal of dental research* 94 (5), S. 650–658. DOI: 10.1177/0022034515573272.

41. Kaul, R.; Kaul, V.; Farooq, R.; Wazir, N. Dev; K., Shafayat U.; Malik, A. H.; Masoodi, A. A. (2014): Cut off values of laser fluorescence for different storage methods at different time intervals in comparison to frozen condition: A 1 year in vitro study. In: *Journal of conservative dentistry : JCD* 17 (2), S. 124–128. DOI: 10.4103/0972-0707.128043.

42. Kidd, E. A.; Naylor, M. N.; Wilson, R. F. (1992): Prevalence of clinically undetected and untreated molar occlusal dentine caries in adolescents on the Isle of Wight. In: *Caries research* 26 (5), S. 397–401. DOI: 10.1159/000261475.

43. Kidd, E. A. (2005): Essentials of Dental Caries. 3rd ed. Cary: Oxford University Press.

44. Klimm, W. (1997): Kariologie. Leitfaden für Studierende und Zahnärzte. München, Wien: Hanser.

45. Kohn, W. G.; Collins, A. S.; Cleveland, J. L.; Harte, J. A.; Eklund, K. J.; Malvitz, D. M. (2003): Guidelines for infection control in dental health-care settings--2003. In: *MMWR. Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports* 52 (RR-17), S. 1–61.

46. Kühnisch, J.; Dietz, W; Stosser, L.; Hickel, R.; Heinrich-Weltzien, R. (2007): Effects of dental probing on occlusal surfaces--a scanning electron microscopy evaluation. In: *Caries research* 41 (1), S. 43–48. DOI: 10.1159/000096104.

47. Larsen, M. J. (1990): Chemical events during tooth dissolution. In: *Journal of dental research* 69 Spec No, 575-80; discussion 634-6. DOI: 10.1177/00220345900690S114.

48. Longbottom, C. L.; Huysmans, M. C.; Pitts, N. B.; Fontana, M: Glossary of key terms. Monogr Oral Sci 21, 209–216 (2009)

49. Longbottom, C. L.; Vernon, B.; Perfect, E.; Haughey, A. M.; Christie, A.; Pitts, N. (2021): Initial investigations of a novel bioluminescence method for imaging dental demineralization. In: *Clinical and experimental dental research* 7 (5), S. 786–794. DOI: 10.1002/cre2.402.

50. Marthaler, T. M. (2004): Changes in dental caries 1953-2003. In: *Caries research* 38 (3), S. 173–181. DOI: 10.1159/000077752.

51. Marthaler, T. M.; O'Mullane, D. M.; Vrbic, V. (1996): The prevalence of dental caries in Europe 1990-1995. ORCA Saturday afternoon symposium 1995. In: *Caries research* 30 (4), S. 237–255. DOI: 10.1159/000262332.

52. Martignon S; Cortés A; Pitts N. B.; Ekstrand K. R.; Cabrera D. F.; Avila V.; Castiblanco G.A.; Gamboa L. F.: Caries-Activity Assessment: Agreement Among Examiners from Clinical Assessments Ex-Vivo and Assessments from Bio-Luminescent Marker Images. Caries Res 2017; 51: 290-385.

53. Mattos-Silveira, J.; Oliveira, M. M.; Matos, R.; Moura-Netto, C.; Mendes, F. M.; Braga, M. M. (2016): Do the ball-ended probe cause less damage than sharp explorers?-An ultrastructural analysis. In: *BMC oral health* 16, S. 39. DOI: 10.1186/s12903-016-0197-9.

54. Miller, W. D. (1889): Die mikroorganismen der mundhöhle. Die örtlichen und allgemeinen erkrankungen, welche durch dieselben hervorgerufen werden. Leipzig: G. Thieme.

55. Moos, J. (2018): Correlation of the CALCIVIS® Imaging System with visual procedures for the detection of active carious lesions on primary teeth - an in-vitro study. (Dissertation Zahnmedizin) Philipps-Universität, Marburg.

56. Moura, J. S.; Rodrigues, L. K. A.; Del Bel Cury, A. A.; Lima, E. M. C. X.; Garcia, R. M. C. R. (2004): Influence of storage solution on enamel demineralization submitted to pH cycling. In: *Journal of applied oral science: revista FOB* 12 (3), S. 205–208. DOI: 10.1590/s1678-77572004000300008.

57. Nawrocka, A.; Łukomska-Szymańska, M. (2019): Extracted human teeth and their utility in dental research. Recommendations on proper preservation: A literature review. In: *Dental and medical problems* 56 (2), S. 185–190. DOI: 10.17219/dmp/105252.

58. Neuhaus, K. W.; Vernon, B, Kennedy A.; Alison, S.; Lussi, A.: Evaluation of Chemiluminescence for Detection of Enamel Caries Lesion Activity. Caries Res 2017; 51: 290-385

59. Nyvad, B.; Machiulskiene, V.; Baelum, V. (1999): Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesions. In: *Caries research* 33 (4), S. 252–260. DOI: 10.1159/000016526.

60. Pistacchio, E.; Disperati, S. (2000): Le carie dentarie: da malattia verminosa a malattia infettiva. In: Le infezioni in medicina 8 (4), S. 245–248.

61. Peterson, P. E.; Baez, R. J. (op.2013): Oral health surveys. Basic methods. 5th ed. Geneva: World Health Organization.

62. Pitts, N. B. (2001): Clinical diagnosis of dental caries: a European perspective. In: *Journal of dental education* 65 (10), S. 972–978.

63. Pitts, N. B. (2004): "ICDAS"--an international system for caries detection and assessment being developed to facilitate caries epidemiology, research and appropriate clinical management. In: *Community dental health* 21 (3), S. 193–198.

64. Pitts, N. B. (2009): Detection, assessment, diagnosis and monitoring of caries. Basel, New York: Karger (Monographs in oral science, v. 21). Zugriff am 22.10.2023. Verfügbar unter https://www.karger.com/Article/Pdf/224209

65. Pitts, N. B.; Longbottom, C.; Vernon, B.; Christie, A.: Determination of Light Output from a Luminescent Assay for the Assessment of Caries Lesion Activity (Abstract). Caries Res, 2013; Poster 2184.

66. Pitts, N. B.; Shanks, N.; Longbottom, C.; Willins, M.; Vernon, B. (2021): Clinical validation of a novel bioluminescence imaging technology for aiding the assessment of carious lesion activity status. In: *Clinical and experimental dental research* 7 (5), S. 772–785. DOI: 10.1002/cre2.400.

67. Ricketts, D. N. J.; Watson, T. F.; Liepins, P. J.; Kidd, E. A. (1998): A comparison of two histological validating techniques for occlusal caries. In: *Journal of Dentistry* 26 (2), S. 89–96. DOI: 10.1016/s0300-5712(96)00081-4.

68. Rodrigues, J. A.; Hug, I.; Diniz, M. B.; Lussi, A. (2008): Performance of fluorescence methods, radiographic examination and ICDAS II on occlusal surfaces in vitro. In: *Caries research* 42 (4), S. 297–304. DOI: 10.1159/000148162.

69. Schühlmann, C. (2022): Einfluss von verschiedenen Lagerungsmedien auf Fluoreszenzmessungen an Zähnen – eine In-vitro-Studie. (Dissertation, Zahnmedizin). Philipps-Universität, Marburg.

70. Shivakumar, K.; Prasad, S.; Chandu, G. (2009): International Caries Detection and Assessment System: A new paradigm in detection of dental caries. In: *Journal of conservative dentistry : JCD* 12 (1), S. 10–16. DOI: 10.4103/0972-0707.53335.

71. Strawn, S. E.; White, J. M.; Marshall, G. W.; Gee, L.; Goodis, H. E.; Marshall, S. J. (1996): Spectroscopic changes in human dentine exposed to various storage solutions — short term. In: *Journal of Dentistry* 24 (6), S. 417–423. DOI: 10.1016/0300-5712(95)00106-9.

72. Takahashi, N.; Nyvad, B. (2008): Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. In: *Caries research* 42 (6), S. 409–418. DOI: 10.1159/000159604.

73. Thylstrup, A.; Bruun, C.; Holmen, L. (1994): In vivo caries models--mechanisms for caries initiation and arrestment. In: *Advances in dental research* 8 (2), S. 144–157. DOI: 10.1177/08959374940080020401.

74. Tubert-Jeannin, S.; Auclair, C.; Amsallem, E.; Tramini, P.; Gerbaud, L.; Ruffieux, C. et al. (2011): Fluoride supplements (tablets, drops, lozenges or chewing gums) for preventing dental caries in children. In: *The Cochrane database of systematic reviews* (12), CD007592. DOI: 10.1002/14651858.CD007592.pub2.

75. Vernon, B.; Kennedy, A.; Alison, S. (2017): Evaluation of the Calcivis Imaging System for Persistence of Images on Tooth Enamel Surfaces. In: *Caries research* 51 (4), S. 290–385. DOI: 10.1159/000471777.

76. Vogel, G. L.; Carey, C. M.; Chow, L. C.; Gregory, T. M.; Brown, W. E. (1988): Micro-analysis of mineral saturation within enamel during lactic acid demineralization. In: *Journal of dental research* 67 (9), S. 1172–1180. DOI: 10.1177/00220345880670090601

77. Wagner, J.; Thomas, G.; Stanford, C. (2003): Forces exerted by a conventional dental explorer during clinical examination. In: *Caries research* 37 (5), S. 365–368. DOI: 10.1159/000072169.

78. Weerheijm, K. L.; Gruythuysen, R. J.; van Amerongen, W. E. (1992): Prevalence of hidden caries. In: *ASDC journal of dentistry for children* 59 (6), S. 408–412.

79. World Health Organisation: Oral Health Surveys. Basic Methods 4th ed Masson (1997).

80. Yassin, O. M. (1995): In vitro studies of the effect of a dental explorer on the formation of an artificial carious lesion. In: *ASDC journal of dentistry for children* 62 (2), S. 111–117.

9 Abbildungsverzeichnis

Abb. 4.1: Versuchsablauf der Studie ... 19
Abb. 4.2: Versuchsablauf ... 20
Abb. 4.3: Prüfzähne mit markierter Messfläche ... 21
Abb. 4.4: Die CALCIVIS Dark Box mit angeschlossenem Laptop ... 22
Abb. 4.5: Aufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche und vier Wochen nach Baseline für Lagerungsmedium A = destilliertes Wasser ... 24
Abb. 4.6: Aufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche und vier Wochen nach Baseline für Lagerungsmedium A = destilliertes Wasser ... 25
Abb. 4.7: Aufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche und vier Wochen nach Baseline für Lagerungsmedium B = Chloramin-T ... 26
Abb. 4.8: Aufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche und vier Wochen nach Baseline für Lagerungsmedium B = Chloramin-T ... 27
Abb. 4.9: Aufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche und vier Wochen nach Baseline für Lagerungsmedium C = Einfrieren bei -20° C ... 28
Abb. 4.10: Aufnahmen von okklusal zu den Zeitpunkten Baseline, eine Woche und vier Wochen nach Baseline für Lagerungsmedium C = Einfrieren bei -20° C ... 29
Abb. 5.1: Box-Plot-Diagramm der unterschiedlichen Lagerungsmedien im Zeitverlauf ... 39

10 Tabellenverzeichnis

Tab. 2.1: International Caries Detection and Assessment System ICDAS in Anlehnung an https://www.iccms-web.com 6
Tab. 2.2: ICDAS Aktivitätsbewertung kariöser Läsionen in Anlehnung an https://www.iccms-web.com 7
Tab. 2.3: Diagnostische Kriterien in Anlehnung an *Nyvad et al.* [1999] 8
Tab. 5.1: Kreuztabelle Schmelzoberflächenaktivität nach ICDAS und CALCIVIS für alle Zähne 33
Tab. 5.2: Kreuztabelle Schmelzoberflächenaktivität nach ICDAS und CALCIVIS für Gruppe A = destilliertes Wasser..... 334
Tab. 5.3: Kreuztabelle Schmelzoberflächenaktivität nach ICDAS und CALCIVIS für Gruppe B = Chloramin-T..... 34
Tab. 5.4: Kreuztabelle Schmelzoberflächenaktivität nach ICDAS und CALCIVIS für Gruppe C = Einfrieren bei -20° C..... 34
Tab. 5.5: Vierfeldertest nach McNemar. Kreuztabelle Schmelzoberflächenaktivität nach ICDAS und CALCIVIS für Gruppe C = Einfrieren nach einer Woche 35
Tab. 5.6: Korrelation zwischen der visuellen Aktivitätsmessung und den Biolumineszenzmessungen zum Zeitpunkt von Baseline für alle 72 Zähne destilliertes Wasser, Chloramin-T und Einfrieren bei -20° C 36
Tab. 5.7: Mediane der Lagerungsgruppen über den Zeitverlauf von vier Wochen..... 36

11 Abkürzungsverzeichnis

Alphabetische Auflistung der verwendeten Abkürzungen in dieser Arbeit:

µl	Mikroliter
%	Prozent
° C	Grad Celsius
&	und
α	Signifikanzniveau
Abb.	Abbildung
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
bzw.	beziehungsweise
CALCIVIS®	Caries Activity Imaging System (CALCIVIS Ltd. Edinburgh, Großbritannien)
CDC	Center of Disease Control
Cis	Calcivisbildgebungssystem
D1	Karies bis zur Hälfte der Schmelzdicke
D2	Karies bis zur Schmelz-Dentingrenze
D3	Karies bis zur Hälfte der Dentindicke
et al.	et alii (maskulinum), et aliae (femininum), et alia (deutrum) „und andere“
ΔF	Fluoreszenzverlust
F	definierter Bereich
F1	Formaldehyd
F2	Formaldehyd in einem pH-Zyklus
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GmbH & Co. KG	Gesellschaft mit beschränkter Haftung & Compagnie Kommanditgesellschaft
ICC	Intra-Class-Korrelationskoeffizient (englisch: Interclass Correlation Coefficient)
ICDAS	International Caries Detection and Assessment System
IQR	Interquartilsabstand (englisch: interquartile range)
κ	Kappa-Wert

LF-Wert	Laserfluoreszenzwert
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
mm	Millimeter
mm^2	Quadratmillimeter
ms	Millisekunde
MS	Microsoft
n	Anzahl der Merkmalsausprägungen
NaCl	Kochsalzlösung
p	Signifikanz
P	Pixelwerte
QLF	Quantitative lichtinduzierte Fluoreszenz
ΔQ	Läsionsvolumen
RDA	relative Dentin Abrasivity
rs	Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman
SE	Sensivität
SP	Spezifität
Tab.	Tabelle
T1	Thymol
T2	Thymol in einem pH-Kreislauf
T_1	Ausgangswert
T_2	Nach 6 Monaten
T_3	Nach 12 Monaten
u. a.	unter anderem
VC iX	VistaCam iX®
vgl.	vergleiche
WHO	World Health Organisation
X^2	Chi-Quadrat
z. B.	zum Beispiel

12 Materialliste

Verwendete Materialien im Rahmen dieser Studie

Materialien zur Reinigung und Lagerung der Zähne:

- Handscaler
- Miniatur-Zahnreinigungsbürstchen, Pluradent, Offenbach
- Reinigungspaste Clinpro Prophy Paste, 3M ESPE, Seefeld
- 0,001% Natriumazid-Lösung
- WHO-Sonde

Materialien für die visuelle Befundung nach ICDAS:

- zahnärztliche Operationsleuchte
- Lupenbrille
- Multifunktionsspritze
- WHO-Sonde

Materialien zur Vorbereitung der Zähne auf die Biolumineszenzmessung:

- Silikonform/ Eiswürfelform
- Silaplast Futur, DETAX GmbH & Co. KG, Ettlingen, Deutschland

Materialien zur Fotodokumentation und Bildbetrachtung:

- dentaleyepad S1, doctorseyes GmbH, Ochsenhausen, Deutschland

Materialien für die Biolumineszenzmessung:

- Biolumineszenzkamera Calcivis® Caries Activity Imaging System (Calcivis Ltd, Edinburgh, Großbritannien)
- Laptop mit zugehöriger Software (Pilon, Fijii)
- Pipette
- CALCIVIS Protein

Materialien für die Lagerungsmedien:

- destilliertes Wasser
- Chloramin-T
- Einfrieren bei -20° C

13 Lebenslauf

Persönliche Angaben:

Namen:	Davidoff
Vorname:	Daniel
Geburtsdatum:	13.06.1993
Wohnort:	Hannover
Familienstand:	verheiratet
Staatsangehörigkeit:	deutsch

Bildungsweg:

07/2014	Allgemeine Hochschulreife
09/2014	Beginn des Studiums der Chemie an der Leibniz Universität Hannover
04/2015	Studium der Zahnmedizin an der Philipps-Universität Marburg
01/2021	Erteilung der Approbation als Zahnarzt
04/2021-12/2022	Tätigkeit als Vorbereitungsassistent im MVZ Dr. Gahmlich & Kollegen GmbH in Hannover
Seit 01/2023	Tätigkeit als Zahnarzt im MVZ Zahnspangenwelt GmbH – Standort Kleefeld

14 Verzeichnis akademischer Lehrer

Meine akademischen Lehrenden an der Philipps-Universität in Marburg waren:

Arweiler, Auschill, Barananowski, Braun, Cetin, Frankenberger, Gente, Höffken, Jablonski-Momeni, Korbmacher-Steiner, Lill, Lotzmann, Mandic, Mengel, Mittag, Neff, Neumüller, Plant, Roggendorf, Steiniger, Suske, Weihe, Ziebart

15 Danksagung

An erster Stelle gebührt mein besonderer Dank Frau Professor Dr. Jablonski-Momeni für die Bereitstellung des Themas, die Betreuung, ihre konstruktive Kritik und ihre Korrekturvorschläge. Vielen Dank für Ihr Engagement und für die zahlreichen kollegialen Gespräche bei allen Fragen.

Ein weiterer Dank gilt der Firma Calcivis® für die Bereitstellung des Prototyps.

Ich möchte meinen Eltern für ihre Unterstützung und ihre stetige Motivation im Rahmen meines Studiums danken.

Ein besonderer Dank gilt meiner Ehefrau Rachel, die für mich stets ein offenes Ohr hatte und mich in meinem Werdegang sowohl persönlich als auch akademisch auf individuelle Art und Weise und von ganzem Herzen unterstützte.

16 Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel „Einfluss von verschiedenen Lagerungsmedien auf Biolumineszenzmessungen-eine In-vitro-Studie“ in der Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, Abteilung für Kieferorthopädie unter Leitung von Prof. Dr. Heike Korbmacher-Steiner mit Unterstützung durch Prof. Dr. Anahita Jablonski-Momeni ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Ich versichere, dass ich sämtliche wörtlichen oder sinngemäßen Übernahmen und Zitate kenntlich gemacht habe.

Mit dem Einsatz von Software zur Erkennung von Plagiaten bin ich einverstanden.

Hannover, den 22.10.2024

Daniel Davidoff

Die Hinweise zur Erkennung von Plagiaten habe ich zur Kenntnis genommen.

Marburg, den 22.10.2024

Professor Dr. Anahita Jablonski-Momeni