

Aus dem Zentrum für Zahn-, Mund- und Kiefergesundheit
Abteilung für Parodontologie
in der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
des Universitätsklinikums
Leiter: Professor Dr. Ulrich Schlagenhaut

**Einfluss des täglichen Konsums *L. reuteri*-haltiger Lutschtabletten
auf die Mundgesundheit
von Besatzungsmitgliedern eines Marineschiffes in See**

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von
Juliane Rehder
aus Kronshagen

Würzburg, Dezember 2017

Referent: Prof. Dr. med. dent. Ulrich Schlagenhaut

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Dr. med. Christoph Schoen

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Juni 2018

Die Promovendin ist Zahnärztin

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | Einleitung..... | 1 |
| 1.1 | Parodontale Erkrankungen..... | 3 |
| 1.1.1 | Epidemiologie..... | 3 |
| 1.1.2 | Ätiopathogenese gingivaler und parodontaler Erkrankungen..... | 7 |
| 1.1.3 | Prävention und Therapie..... | 13 |
| 1.2 | Probiotika..... | 18 |
| 1.2.1 | Allgemeine Grundlagen..... | 18 |
| 1.2.2 | Probiotika in der Zahnmedizin..... | 23 |
| 1.2.3 | <i>Lactobacillus reuteri</i> | 26 |
| 2 | Ziel der Studie..... | 35 |
| 3 | Material und Methode..... | 37 |
| 3.1 | Studiendesign..... | 37 |
| 3.2 | Organisatorische Rahmenbedingungen..... | 37 |
| 3.2.1 | Studienschiff..... | 37 |
| 3.2.2 | Studienkollektiv..... | 40 |
| 3.2.3 | Screening und Rekrutierung..... | 41 |
| 3.2.4 | Untersuchungszeiträume..... | 43 |
| 3.3 | Klinische Untersuchung..... | 43 |
| 3.3.1 | Gingival-Index..... | 47 |
| 3.3.2 | Bleeding on Probing..... | 47 |
| 3.3.3 | Probing Pocket Depth und Clinical Attachment Level..... | 48 |
| 3.3.4 | Plaque Control Record..... | 49 |
| 3.4 | Studienlutschtabletten..... | 50 |
| 3.5 | Datenauswertung und Statistik..... | 51 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 4 | Ergebnisse..... | 53 |
| 4.1 | Probanden..... | 53 |
| 4.2 | Bleeding on Probing..... | 57 |
| 4.3 | Probing Pocket Depth und Clinical Attachment Level..... | 63 |
| 4.4 | Gingival-Index..... | 67 |
| 4.5 | Plaque Control Record..... | 71 |
| 5 | Diskussion..... | 74 |
| 5.1 | Methode..... | 74 |
| 5.1.1 | Studiendesign..... | 74 |
| 5.1.2 | Organisatorische Rahmenbedingungen..... | 74 |
| 5.1.3 | Klinische Untersuchung..... | 79 |
| 5.1.4 | Studienlutschtabletten..... | 83 |
| 5.2 | Ergebnisse..... | 85 |
| 5.2.1 | Probanden..... | 85 |
| 5.2.2 | Placebogruppe..... | 87 |
| 5.2.3 | Verumgruppe..... | 91 |
| 5.3 | Schlussfolgerung..... | 101 |
| 6 | Zusammenfassung..... | 103 |
| 7 | Literaturverzeichnis..... | 105 |
| I. | Abkürzungsverzeichnis..... | I |
| II. | Darstellungsverzeichnis..... | III |
| II.1 | Abbildungen..... | III |
| II.2 | Tabellen..... | IV |

| | |
|---|------|
| III. Anhang | V |
| III.1 Ethikvotum..... | V |
| III.2 Genehmigung des Prüfplanes | VII |
| III.3 Informationsvortrag für Probanden | VIII |
| III.4 Probandeninformation zur Studie | XII |
| III.5 Einverständniserklärung zur Studienteilnahme | XVI |
| III.6 Herstellernachweis der Studienlutschtabletten | XVII |
| III.7 Statistisches Analyseprotokoll | XIX |
| III.8 LOCF-Analyse | XXVI |

Danksagung

Lebenslauf

1 Einleitung

Gingivitis und Parodontitis sind entzündliche Erkrankungen der Mundhöhle. Sie gehören zu den am weitesten verbreiteten Krankheiten in den Industriegesellschaften und betreffen z. B. in Deutschland mehr als 90% der Bevölkerung (*Jordan/Micheelis 2016*).

Sie sind durch ausgeprägte Anhäufung mikrobieller Biofilme auf den Oberflächen der Zähne und der benachbarten Weichgewebe gekennzeichnet. Spezifische, proteolytische, meist gramnegative Keime innerhalb dieser Biofilme lösen eine Entzündungsreaktion des Wirts aus, die nachfolgend zur fortschreitenden Zerstörung des die Zähne unterstützenden Alveolarknochens führt (*Socransky et al. 1998*). Darüber hinaus gelten nachteilige systemische Aus- bzw. Wechselwirkungen, beispielsweise im Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen oder Diabetes mellitus, als gesichert (*Grossi/Genco 1998, Davé/van Dyke 2008*).

Der derzeit etablierte Standard in der Therapie und Prophylaxe von Gingivitis und Parodontitis ist die regelmäßige, möglichst vollständige mechanische Entfernung dentaler Biofilme durch effektive häusliche Mundpflege, die bei Patienten mit manifester Parodontitis durch wiederholte professionelle Debridements ergänzt werden muss. Die erfolgreiche Behandlung biofilmassoziiertes oraler Entzündungen kann jedoch nicht ausschließlich von der kompletten mechanischen Entfernung dieses Biofilms abhängig sein (*Tonetti et al. 2015a/b, Chapple et al. 2015, Sanz et al. 2015*).

Neuere Erkenntnisse zeigen, dass nicht die Menge der auf den Zähnen aufgewachsenen bakteriellen Beläge, sondern vielmehr eine dysbiotische Verschiebung der Vielfalt und Häufigkeitsverteilung bakterieller Arten innerhalb der Beläge als eigentliche Ursache für den Beginn des Krankheitsprozesses angesehen werden muss (*Hajishengallis/Lamont 2012*). Diesbezüglich sind Fehlernährung, regelmäßiges Rauchen sowie hoher psychosozialer Stress als hauptsächliche Trigger zur Initiierung dysbiotischer Verschiebungen innerhalb der bakteriellen Mund- und Darmmikrobiota identifiziert worden (*Genco/*

Borgnakke 2013, *Voreades et al.* 2014, *Alexander et al.* 2014). Vor diesem Hintergrund rückt daher die Frage, ob die krankheitsförderliche Zusammensetzung dysbiotischer oraler Mikrobiota direkt zu korrigieren ist, in den Fokus aktueller Forschungsanstrengungen. Als erste ursachengerichtete Optionen zur Behandlung und Prävention dysbiotischer Verschiebungen bieten sich die Umstellung der Ernährung, die Aufgabe des Rauchens sowie Strategien zur Stressreduktion an. Ihre Realisierung gestaltet sich in der klinischen Praxis aber oftmals sehr schwierig. Eine mögliche Alternative zur Beeinflussung bakterieller Dysbiosen, die zwar im strengen Sinne nicht an der Reduktion der eigentlichen Ursachen der Dysbiosen ausgerichtet ist, aber signifikant geringere Anforderungen an die Mitarbeit der Betroffenen stellt, ist der direkte Konsum probiotischer, antiinflammatorisch wirksamer Bakterien. Die regelmäßige orale Einnahme probiotischer Laktobazillen zeigte bei manifester Gingivitis bereits in mehreren klinischen Interventionsstudien eine signifikante Reduktion der gingivalen Entzündungssymptome auch ohne zeitgleiche Verbesserung der häuslichen Mundhygiene und ohne gleichzeitige Änderungen des Lebensstils. Der regelmäßige Konsum probiotischer wirksamer Stämme des Bakteriums *Lactobacillus reuteri* erwies sich dabei klinisch als besonders vielversprechend (*Krasse et al.* 2006, *Schlagenhauf et al.* 2016b).

Studien zum Mundhygieneverhalten von Soldaten¹ der Bundeswehr sowie zum parodontalen Behandlungsbedarf haben deutsche Soldaten als eine Risikogruppe identifiziert, die im Vergleich zur allgemeinen Bevölkerung eine signifikant höhere Prävalenz gingivaler und parodontaler Entzündungen aufweist (*Butterbrodt* 1998). Bei Auslandseinsätzen von Soldaten der Bundeswehr zeigte sich überdies häufig eine signifikante Verschlechterung der individuellen Zahnpflege, die mit einer Reduktion des gingivalen sowie insbesondere des parodontalen Gebisszustandes korrelierte (*Hein* 2009) und unmittelbare negative Auswirkung auf die dentale Fitness und damit auf die einsatzbezogene Verwendungsfähigkeit der Soldaten hatte.

¹ Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird auf die gleichzeitige Verwendung männlicher und weiblicher Sprachformen verzichtet. Sämtliche Personenbezeichnungen gelten gleichwohl für beiderlei Geschlecht.

In der vorliegenden Studie sollte daher überprüft werden, ob die einsatzbedingte Verschlechterung der Mundgesundheit von Soldaten durch die Einnahme *Lactobacillus reuteri*-haltiger Lutschtabletten kompensiert werden kann, da, wie bereits zuvor dargestellt, der Status der Mundgesundheit die Einsatztauglichkeit von Soldaten nachhaltig zu beeinflussen vermag.

1.1 Parodontale Erkrankungen

1.1.1 Epidemiologie

Weltweit wurden zahlreiche Studien zur Epidemiologie der Gingivitis und Parodontitis durchgeführt, deren Aussagen jedoch in Abhängigkeit der untersuchten Kollektive, der Messmethoden sowie der Zielkriterien vielfach divergieren. Aufgrund des Fehlens einheitlicher allgemein akzeptierter Standards bezüglich Studiendesign, Untersuchungsmethoden und Klassifikationskriterien ist die Vergleichbarkeit vorliegender Daten zum Teil nur eingeschränkt gewährleistet und somit die Ableitung allgemeiner Schlussfolgerungen limitiert (*Albandar/Rams 2002*). Unabhängig von den verwendeten Zielkriterien und Methoden belegen jedoch alle einschlägigen epidemiologischen Studien weltweit eine sehr hohe Prävalenz gingivaler und parodontaler Entzündungen.

Betrachtung der Allgemeinheit

Gingivitis und Parodontitis gehören zu den am weitesten verbreiteten Krankheiten in den Industriegesellschaften und betreffen große Teile der Bevölkerung (*Demmer/Papapanou 2010, König et al. 2010*). Bei erwachsenen US-Amerikanern konnte beispielweise bei 75% Gingivitis (*Albandar 2005*) bzw. bei 46% das Vorliegen einer Parodontitis festgestellt werden (*Eke et al. 2015*). Europäische Untersuchungen beschreiben ähnliche Prävalenzraten (*Hugoson et al. 2008*). Vergleichbare oder sogar noch höhere Krankheitshäufigkeiten sind in Südamerika und Afrika dokumentiert worden (*Gjeramo et al. 2002, Petersen/ Kaka 1999*). Weltweit wird die Prävalenz schwerer Parodontitis auf ca. 10% geschätzt, so dass die schwere Parodontitis zu den sechs weltweit häufigsten Erkrankungen zählt (*Kassebaum et al. 2014*).

Auch epidemiologische Daten aus Deutschland belegen eine sehr hohe Prävalenz parodontaler Erkrankungen in der deutschen Bevölkerung. Gemäß den Ergebnissen der Vierten Deutschen Mundgesundheitsstudie (DMS IV) aus dem Jahr 2006 zeigten sich insgesamt weniger als 2% des untersuchten deutschen Bevölkerungsquerschnitts als parodontal völlig gesund (*Micheelis/Schiffner* 2006). In der Altersgruppe der 35- bis 44-Jährigen wiesen sogar lediglich 0,5% der Untersuchten nach den Kriterien des Community Periodontal Index (CPI) (*Ainamo et al.* 1982, *WHO* 1997) parodontal gesunde Gebisse auf. In den Altersgruppen von 35 bis 44 bzw. 65 bis 74 Jahren lag die Prävalenz der Parodontitis bei 71% bzw. 87% (*Holtfreter et al.* 2010). Nachdem die Daten der DMS IV-Studie eine deutliche Zunahme der Parodontitisprävalenz im Vergleich zur vorhergehenden DMS III-Studie aus dem Jahre 1997 (*Micheelis/Reich* 1999) belegten, zeigen die Befunde der aktuellen DMS V-Studie aus dem Jahr 2016 nun eine leicht rückläufige Tendenz. Dennoch wird aufgrund der demografischen Entwicklung im Bereich parodontaler Erkrankungen auch in den nächsten Jahren weiterhin mit einem deutlich steigenden Behandlungsbedarf gerechnet (*Jordan/Micheelis* 2016).

Betrachtung von Soldaten der Bundeswehr

An Soldaten der Bundeswehr wurden als einer gut verfügbaren Gruppe meist junger Erwachsener zahlreiche epidemiologische Untersuchungen durchgeführt, die u.a. den Stand der Mundhygiene und die Prävalenz parodontaler Destruktion erfassten.

Gingivitis und Parodontitis sind auch unter Soldaten weit verbreitet. So wurden beispielsweise in einer epidemiologischen Studie der parodontale Status von insgesamt 2023 Soldaten untersucht, von denen sich gemäß den Kriterien des CPI lediglich 4,8% als parodontal gesund zeigten (*Henne et al.* 1988). In einer anderen Untersuchung an 1075 Bundeswehrrekruten wurde eine Gingivitis-morbidität von 97,2% konstatiert (*Rechmann* 1984). *Plewe* diagnostizierte bei nur 0,6% der Erfassten gesunde gingivale Verhältnisse (*Plewe* 1992).

In weiteren Studien (*Butterbrodt* 1998, *Lange/Schwöppe* 1981, *Brozio et al.* 1982) wies überhaupt keiner der untersuchten Bundeswehrsoldaten gesunde gingivale

und parodontale Verhältnisse auf. Im Vergleich hierzu konnten *Mausberg* et al. bei einer Untersuchung an 376 Soldaten nur in 51,1% der Fälle manifestes Zahnfleischbluten feststellen (*Mausberg* et al. 1985).

Veränderungen bei Soldaten unter Einsatzbedingungen

In einer Studie, die den Gebisszustand und das Mundhygieneverhalten 29- bis 45-jähriger Soldaten im Versorgungsbereich einer Zahnarztgruppe der Bundeswehr untersuchte, gaben 42,8% der Befragten an, dass sich militärische Übungen negativ auf ihre Zahnpflege auswirkten (*Plewe* 1992). Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch eine andere Studie, bei der fast die Hälfte der untersuchten Heeresangehörigen angab, dass sich bei ihnen die Zahnpflegewohnheiten während einer militärischen Übung änderten (*Butterbrodt* 1998).

Die daraus resultierende Vermutung, dass es zu erkennbaren Veränderungen des Mundhygieneverhaltens und des gingivalen und parodontalen Gebisszustandes unter Einsatzbedingungen bzw. im Auslandseinsatz kommen würde, wurde in der Folge überprüft. Bei Besatzungsangehörigen einer Fregatte zeigte sich nach einem viermonatigen Seefahrtszeitraum eine allgemeine Verschlechterung des kariologischen Status. Obwohl bereits zu Beginn der Untersuchung bei allen Besatzungsmitgliedern parodontale Erkrankungszeichen festgestellt wurden, waren die am Einsatzende dokumentierten Veränderungen nur geringgradig (*Rellermeier* 1998). Eine Studie an deutschen Soldaten im Auslandseinsatz im Kosovo ergab, dass während der sechsmonatigen Studiendauer eine tendenzielle Zunahme der Sondierungstiefen, des Attachmentverlustes und der Breite gingivaler Rezessionen eingetreten war (*Müller* et al. 2001, 2002a/b). Ebenfalls an einer weiteren Soldatengruppe im Auslandseinsatz konnte über einen Zeitraum von sechs Monaten eine signifikante Verschlechterung der parodontalen Verhältnisse festgestellt werden (*Hein* 2009). *Lüpke* konnte in der von ihm untersuchten Kohorte von im Einsatz befindlichen Soldaten geringgradige negative Auswirkungen der Einsatzbedingungen auf den Entzündungszustand der Gingiva nachweisen, die im Studienzeitraum aber zu keiner weiteren parodontalen Destruktion führten (*Lüpke* 2011).

Das Ausmaß parodontaler Gesundheitsprobleme von Soldaten spiegelt sich auch direkt in der Notwendigkeit zahnärztlicher Behandlungen im Auslandseinsatz wider. 10% aller im Rahmen des Einsatzes *International Security Assistance Force (ISAF)* in Afghanistan im Jahr 2008 durchgeführten zahnärztlichen Notfallbehandlungen bei Soldaten der Bundeswehr erfolgten aufgrund parodontaler Probleme (*Lüpke/Greven 2010*).

1.1.2 Ätiopathogenese gingivaler und parodontaler Erkrankungen

Die Ursache für die Entstehung und Progression parodontaler Erkrankungen sind bislang immer noch nicht umfassend geklärt und weiterhin Gegenstand aktueller Forschungsbemühungen.

In den vergangenen Jahrzehnten haben sich im Verständnis von Ätiologie und Pathogenese parodontaler Erkrankungen aufgrund intensiver Forschung mehrere phasenhafte Veränderungen ergeben, die das alte Bild parodontaler Erkrankungen als orale Infektion hin zu einer primär von systemischen Entzündungen getriggerten bakteriellen Dysbiose veränderten.

In den 50er Jahren des vorigen Jahrhunderts wurden zunächst einzig Bakterien als Ursache parodontaler Erkrankungen angesehen (*Schultz-Haudt et al. 1954 a/b*). Die bakterielle Gingivitisgenese galt mit der Studie von *Löe und Theilade* zur experimentellen Gingivitis (*Löe et al. 1965*) als bewiesen und begründete die sogenannte „Unspezifische Plaque-Hypothese“. Gingivitis entsteht nach diesem ätiologischen Modell als Folge mangelhafter Mundhygiene. Bakterieller Zahnbelag ist diesem Konzept folgend immer pathologisch und muss daher in der Konsequenz regelmäßig entfernt werden. In den Folgejahren konnte diese bakterielle Ätiologie auch für die Parodontitis als Infektionserkrankung bestätigt werden. Man ging davon aus, dass allein die Quantität der den Zähnen aufsitzenden bakteriellen Biofilme für die Entstehung einer Parodontitis den entscheidenden Faktor darstellt.

Die Schlußfolgerungen aus dieser Hypothese stimmten aber häufig nicht mit klinischen Beobachtungen an vielen Patienten überein. Es zeigte sich, dass infolge ungestörter Plaqueakkumulation nicht zwangsläufig eine manifeste Gingivitis entsteht, sondern vielmehr eine große individuelle Anfälligkeit bezüglich der Ausprägung der gingivalen Entzündung besteht (*Brecx et al. 1988*). Auch massive Plaqueanlagerungen korrelierten nicht konstant mit der Ausprägung oder Progredienz von Gingivitis oder Parodontitis (*Löe et al. 1986*). Daraus folgerte man, dass die Anwesenheit spezieller parodontopathogener Keime in den bakteriellen Zahnbelägen für die Entstehung und das Voranschreiten von Parodontitiden ursächlich sein müssten. Meilenstein in diesem Zusammenhang war die Entdeckung mikrobieller Verschiebungen in den

bakteriellen Belägen der von Parodontitis betroffenen Patienten. Es wurde eine dramatische Divergenz in der Zusammensetzung der oralen Mikrobiota bei parodontal Kranken und Gesunden festgestellt (Slots 1977a/b, Socransky 1977, Tanner et al. 1979, Moore et al. 1982/1983), woraus schließlich die „Spezifische Plaque-Hypothese“ entstand (Loesche 1979/1992). *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* und *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (später umbenannt in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) wurden nun als direkt mit Krankheitsentstehung verbundene Pathogene angesehen (Slots/Listgarten 1988). Darauffolgend identifizierte man spezifische Bakteriencluster, die mit dem Auftreten und dem Schweregrad parodontaler Erkrankungen korrelierten und von der in diesem Bereich forschenden Arbeitsgruppe von Socransky et al. einer farbkodierten Einteilungsskala zugeordnet wurden (Socransky et al. 1998). Insbesondere dem sogenannten „Red Complex“, einer Gruppe von drei Arten, darunter *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* und *Tannerella forsythia*, wurde eine entscheidende Rolle in der Entwicklung der Parodontitis zugeschrieben (Ximénez-Fyvie et al. 2000).

Die Problematik der spezifischen Plaquehypothese bestand jedoch darin, dass Patienten beobachtet werden konnten, bei denen relevante pathogene Keime diagnostiziert wurden, die aber dennoch keine Parodontitis entwickelten (Slots 1986). Parodontalpathogene Mikroorganismen wären demnach eine notwendige, jedoch keine hinreichende Bedingung für die Entstehung und Progression einer Parodontitis. Es wurden zusätzliche Risikofaktoren in Erwägung gezogen und die Parodontitis als opportunistische Infektion beschrieben.

Weiterführend geht die sogenannte ökologische Plaquehypothese davon aus, dass sich Plaque in einem Zustand bakterieller Homöostase befindet, die durch das komplizierte ökologische Ineinandergreifen der synergetischen und antagonistischen Stoffwechsellleistungen der beteiligten Mikroorganismen entsteht. Danach bedingt die Entzündung in den Geweben die mikrobiellen Veränderungen und nicht umgekehrt, wie bis dahin angenommen. Parodontale Erkrankungen entstünden als „ökologische Katastrophe“ durch Veränderungen

der Lebensbedingungen unter dem Einfluss weiterer Umweltfaktoren (*Marsh 2003*).

Diese Erkenntnisse reduzierten nicht die Bedeutung von Bakterien und anderen Mikroorganismen in der Ätiologie und Pathogenese der Parodontalerkrankungen. Es wurden lediglich wirtsrelevante Faktoren wie Genetik, Immunreaktion, Diät, Rauchen, Stress, systemische Gesundheit und soziale Elemente als offensichtlich wichtige Krankheitsdeterminanten hinzugefügt.

Mit zunehmendem Verständnis der Pathogenese der Parodontalerkrankungen wurde auch deutlich, dass der größte Teil der Gewebeschädigung, die die Parodontalerkrankung kennzeichnet, direkt durch die entzündliche Wirtsreaktion und nicht durch etwaige gewebsdestruktive Enzyme der parodontitisassoziierten Keime verursacht wird (*van Dyke/Serhan 2003*).

Im Jahr 2008 wurde der Übergang von einer Betrachtung der Parodontitis als bis dato Infektionserkrankung zu der einer entzündlichen Erkrankung anlässlich einer Konsensuskonferenz der *American Academy of Periodontology (AAP)* offiziell vollzogen. Zeitgleich waren wichtige Arbeiten publiziert worden, die erstmals die Entzündungsresolution als einen aktiven Prozess beschrieben (*Serhan/Savill 2005, Serhan 2007, Serhan et al. 2007*). Diese Entdeckung führte zu einem neuen Paradigma: Eine chronische Entzündung wie die Parodontitis könnte durch ein Versagen der Entzündungsauflösung und nicht durch kontinuierliche entzündliche Stimulation bedingt sein. Es würde sich also um einen hochregulierten, aktiven Prozess zur Rückkehr zur Gewebekomöostase handeln und nicht, wie bisher vermutet, um ein passives Ereignis (*van Dyke/Kornman 2008, van Dyke 2008*).

Neuere Studien stellen die Bedeutung des menschlichen Mikrobioms, das spezifische, funktionell relevante und personalisierte interindividuelle Unterschiede aufweist, für Gesundheit und Krankheit heraus (The Human Microbiome Project Consortium 2012). Allein der menschliche Darm beherbergt etwa zehnmal mehr Bakterien, die in überwiegendem Maße symbiotisch oder kommensal sind, und vermutlich 400mal mehr Gene, als Zellen im gesamten menschlichen Körper bzw. Gene im menschlichen Genom vorhanden sind (*Yang et al. 2009, Wei/Brent 2006*). Das orale Mikrobiom heutiger Menschen in den

Industrieländern ist mit seinen ca. 700 unterschiedlichen Bakterienarten erheblich weniger divers als das historische Populationen und hat sich darüber hinaus häufig zu entzündungsförderlichen dysbiotischen Konfigurationen verlagert (*Adler et al. 2013*). Ein Mangel an Diversität wird in diesem Zusammenhang mit einer Zunahme chronisch-entzündlicher Erkrankungen in Verbindung gebracht. Bemerkenswerterweise werden Veränderungen der Diversität der oralen Mikrobiota neben den Erkrankungen der Mundhöhle auch mit vielen weiteren systemischen Erkrankungen assoziiert, die durch chronisch verlaufende Entzündungen gekennzeichnet sind, darunter beispielsweise der Diabetes mellitus (*Grossi/Genco 1998*), Arthritis (*Mercado et al. 2001, Kaur et al. 2012*) sowie kardiovaskuläre Erkrankungen (*Davé/van Dyke 2008*). Die genauen Mechanismen der chronisch proinflammatorisch wirkenden Interaktion zwischen Mikrobiota und den Strukturen des mukosalen Immunsystems sind jedoch bislang nur fragmentarisch geklärt.

Nicht nur Entzündungsprozesse, sondern diverse physiologische Funktionen des menschlichen Körpers werden offensichtlich in erheblichem Maße vom humanen Mikrobiom mitbestimmt. Die Bakterien des Mikrobioms übernehmen Funktionen, die sonst nicht direkt vom menschlichen Körper geleistet werden können, z. B. bei der Verdauung von Nahrung, der Stoffwechselregulierung, der Immunabwehr, der Energiegewinnung, der Nutzbarmachung von Nährstoffen oder der Synthese von Vitaminen. So haben eine große Zahl bakterieller Gene eine essentielle Bedeutung für die Physiologie des menschlichen Körpers und ergänzen hiermit beispielsweise metabolische Fähigkeiten, die im eigentlichen humanen Genom nicht angelegt sind (*Turnbaugh et al. 2007*).

Mit welchen Mechanismen es der menschliche Körper schafft, die metabolischen Fähigkeiten nützlicher Arten des oralen und intestinalen Mikrobioms zu nutzen, aber gleichzeitig die Invasivität pathogener Keime abzuwehren, ist Gegenstand intensiver aktueller Forschungen (*Sansonetti 2011*).

Erst vor kurzem konnte dabei Hajishengallis die „Keystone-Hypothese“ als neue konzeptionelle Grundlage der Pathogenese parodontaler Erkrankungen ableiten (*Hajishengallis et al. 2012*). „Keystone-Pathogene“ haben demnach eine belegbare Auswirkung auf ihre Umwelt, die im Verhältnis zu ihrer Gesamtmenge

unverhältnismäßig ist. Eine normalerweise physiologische Mikrobiota kann demnach bereits durch eine klinisch prinzipiell geringe Menge pathogen wirkender Schlüsselkeime qualitativ und quantitativ so verändert werden, dass die bis dato vorherrschende Gewebemöostase nachhaltig gestört wird.

Darauf aufbauend entstand ein neues Modell der Ätiologie der Parodontitis als komplexer dysbiotischer Erkrankung: „Das polymikrobielle Synergie und Dysbiose Modell - PSD-Modell“ (*Hajishengallis/Lamont 2012*). Parodontitis wird demnach nicht durch selektierte parodontalpathogene Keime, sondern durch eine synergistische und dysbiotische mikrobielle Gemeinschaft initiiert. Bei dieser polymikrobiellen Synergie übernehmen verschiedene Bakterien oder spezifische Genkombinationen innerhalb der Gemeinschaft unterschiedliche, konvergente Rollen. Eine krankheitserregende Mikrobiota entsteht durch kooperative Wechselwirkungen als „Teamarbeit“. Diese variable Gemeinschaft aus physiologisch kompatiblen Organismen befindet sich zunächst in einem kontrollierten immuno-inflammatorischen Zustand, der die Integrität der benachbarten Epithelzellen des Körpers nicht bedroht. Proinflammatorische Tendenzen, Überwucherung und offene Pathogenität werden erst durch eine fehlgesteuerte und überschießende Entzündungsreaktion des Körpers ausgelöst. Grundvoraussetzung für eine potenziell pathogene bakterielle Gemeinschaft ist nach dem PSD-Modell neben anderen wichtigen Kernfunktionen die Kolonisierung der Biofilme mit "Keystone-Pathogenen" (*Hajishengallis 2014a/b*). Das am besten dokumentierte Beispiel für einen solchen potentiell pathogenen Schlüsselkeim ist *Porphyromonas gingivalis* (*Darveau et al. 2012, Hajishengallis/Lamont 2014*). Er hat als "Keystone-Pathogen" die Fähigkeit, die Wirtsreaktion zu modulieren und einer Eliminierung durch die humoralen und zellulären Strukturen des mukosalen Immunsystems zu entgehen. So kann beispielsweise *Porphyromonas gingivalis* die Effektivität der Wirtsabwehr durch Antwortmanipulation der Toll-like Rezeptor-Bindung, Interleukin 8-Subversion und enzymatische Spaltung der Proteine des Komplementsystems nachhaltig beschädigen (*Darveau 2009a/b, Hajishengallis/Lambris 2011, Darveau et al. 2012, Maekawa et al. 2014*). Die daraus resultierende Unfähigkeit des Wirts, die krankheitsförderliche Dysbiose der oralen bakteriellen Biofilme zu verhindern

führt im Sinne eines positiven Feedbacks zu einer weiteren Steigerung der Freisetzung proinflammatorisch gewebsdestruktiv wirksamer Zytokine und Proteasen. Wenngleich diverse Virulenzfaktoren von *Porphyromonas gingivalis* die Initiierung parodontaler Entzündungen unter Umständen entscheidend fördern, so kann dieser Keim die Erkrankung selbst jedoch nicht ohne das Vorhandensein einer primär kommensalen Mikrobiota auslösen (Baker et al. 2000a/b).

Schlüsselkeime können darüber hinaus auch die Virulenz der gesamten mikrobiellen Gemeinschaft durch interaktive Kommunikation mit akzessorischen Pathogenen erhöhen. So werden proaktiv Entzündungen induziert. Die entzündungsbedingten Abbauprodukte sind essentielle Nährstoffe, die die Modifikation hin zu einer inflammophilen Gemeinschaft fördern, die dysbiotische mikrobielle Gemeinschaft ernähren und damit deren dauerhaften Erhalt sichern. Die Folge ist ein Teufelskreis, in dem sich Entzündung und Dysbiose gegenseitig verstärken (Hajishengallis/Moutsopoulos 2014, Hajishengallis et al. 2015, Lamont/Hajishengallis 2015).

Aktuelle Forschungsarbeiten untersuchten auch externe Faktoren, die auf das Wachstum der beschriebenen Schlüsselbakterien einen direkten Einfluss nehmen. So beeinflusst beispielsweise die Art der konsumierten Nahrung die bakterielle Selektion im oralen Mikrobiom entscheidend (Voreades et al. 2014). Es kommt in Abhängigkeit von Nahrungsbestandteilen nachfolgend zu einer Zu- oder Abnahme spezifischer Keime oder Keimgruppen. So konnte u. a. gezeigt werden, dass beispielsweise der Konsum faserreicher Ballaststoffe durch Induktion von Bakterienselektion und deren in der Folge ablaufende Stoffwechselfvorgänge letztendlich chronisch ablaufende Entzündungsprozesse reduzieren kann (Alexander et al. 2014).

Die parodontale Homöostase kann darüber hinaus durch eine Vielzahl von weiteren wirts- oder bakterienabhängigen Faktoren beeinflusst werden (Genco/Borgnakke 2013). Genetische Faktoren des Wirts, die signifikant zur Zusammensetzung der Plaque und zur Anfälligkeit für Krankheiten beitragen (Mason et al. 2013/2015), gehören ebenso dazu wie genetische Prädisposition (Bochenek et al. 2013, Schaefer et al. 2013), Alter (Hajishengallis 2014c) oder systemische

Erkrankungen wie Diabetes mellitus (*Herrmann 2011, Chapple/ Genco et al. 2013*) und Adipositas (*Shungin et al. 2015, Keller et al. 2015*). Auch Umweltfaktoren wie z. B. regelmäßiges Rauchen (*Nociti et al. 2015*), Diät (*Baumgartner et al. 2009, Hujoel 2009, Chapple et al. 2012, Jockel-Schneider et al. 2016, Woelber et al. 2017*) oder psychosozialer Stress, Depression und psychosoziale Verhaltensmuster (*Rosania et al. 2009, Goyal et al. 2013*) sind in diesem Zusammenhang zu nennen.

Alle Faktoren können möglicherweise separat oder aber mutmaßlich in variabler Kombination eine symbiotische Mikrobiota in eine dysbiotische verwandeln und somit zur Initiierung parodontaler Entzündungen führen.

1.1.3 Prävention und Therapie

Aktueller Ausgangspunkt der Prävention parodontaler Erkrankungen ist die Vorstellung, dass eine langfristige Sicherung der Mundgesundheit nur durch eine andauernde, sorgfältige supragingivale Reinigung der Zähne von aufgewachsenen bakteriellen Biofilmen sichergestellt werden kann. Es ist durch experimentelle Studien sicher belegt, dass eine regelmäßige und effektive häusliche Zahnpflege die Entstehung einer Gingivitis verhindern kann (*Lang et al. 1973*). Das auf strikter Kontrolle bakterieller Biofilme basierende Prophylaxe-Konzept von *Axelsson* und *Lindhe* gilt noch heute als etablierter Goldstandard oraler Prävention (*Lindhe et al. 1975, Axelsson/Lindhe 1978/1981a/b, Axelsson et al. 1991/2004*). Es ist nach wie vor evidenzbasierter Konsens, dass ein Zusammenspiel von effektiver häuslicher Mundhygiene sowie professioneller Überwachung und Intervention, das sich am individuellen Erkrankungsrisiko des Patienten orientiert, die Grundlage eines erfolgreichen parodontalen Präventionsmanagements bleibt. Diese Maßnahmen werden durch Beratung zur Verhaltensänderung in Bezug auf die Förderung einer gesunden Lebensweise und Raucherentwöhnung ergänzt (*Tonetti et al. 2015a/b, Chapple et al. 2015, Sanz et al. 2015*).

Die Entfernung bakterieller Zahnbeläge gilt als das zentrale Element jeder ursachenorientierten Parodontitistherapie. Die parodontale Therapie stützt sich dabei im Wesentlichen auf ein mechanisches Debridement, chemische

antibakterielle Wirkstoffe werden in der Regel lediglich therapiebegleitend eingesetzt. Es ist allgemein anerkannt, dass antibakteriell wirksame Substanzen, isoliert verwendet, keine ausreichende Wirksamkeit bei der Auflösung parodontaler Entzündungen aufweisen (*Zambon* 1996).

Mechanische Methoden der Biofilmkontrolle, einschließlich nicht-chirurgischer und chirurgischer Verfahren, zielen darauf ab, bakterielle Biofilme zu eliminieren und ihr Wiederaufwachsen durch die Beseitigung ökologischer Besiedlungsnischen zu verhindern (*Loesche* 1976, 1996). Allerdings gilt es als mittlerweile zweifelsfrei erwiesen, dass eine dauerhafte Eradikation von Bakterien in der Mundhöhle nicht möglich ist (*Harper/Robinson* 1987, *Magnusson* et al. 1984, *Quirynen* et al. 2006).

Etablierte Therapiekonzepte zielen auf eine Minimierung der bakteriellen Besiedlung im Bereich des Zahnhalses und der erkrankten Zahnfleischtaschen ab, um die Abheilung pathologisch vertiefter Zahnfleischtaschen zu ermöglichen. Das klinische Behandlungsziel ist die Reduktion der parodontalen Sondierungstiefen auf Werte ≤ 4 mm sowie die Abwesenheit einer Blutung und/oder Suppuration beim schonenden Sondieren der Zahnfleischtaschen (*Wennström* et al. 1986). Um dieses Ziel zu erreichen, wird die Therapie parodontaler Erkrankungen üblicherweise systematisch in mehrere Behandlungsphasen unterteilt, deren Erfolg jeweils die Basis für den nächsten Behandlungsschritt darstellt.

Primäres Ziel der so genannten Initialtherapie oder Hygienephase ist es, durch die Optimierung der persönlichen Mundhygiene in Kombination mit professioneller Reinigung die gingivale Entzündung zu reduzieren. Eine effektive supragingivale Plaquekontrolle durch intensive häusliche Zahnpflege gilt vielen parodontologischen Experten als unverzichtbare Voraussetzung für den Erfolg der nachfolgenden antiinfektiösen Phase. Diese umfasst die nichtchirurgische Reinigung manifester Zahnfleischtaschen und Wurzeloberflächen von weichen und mineralisierten Biofilmen (*van der Weijden/Timmerman* 2002). Das älteste und immer noch meist verwendete Verfahren ist die als „Scaling and Root Planing“ (SRP) bezeichnete Entfernung harter und weicher Beläge von den bakteriell besiedelten Wurzeloberflächen und deren nachfolgenden Glättung mit

Hilfe von Scalern, Küretten und anderen Handinstrumenten (Cobb 2002). Hierzu gibt es unterschiedliche Konzepte in der praktischen und zeitlichen Durchführung. Es finden einzeitige oder quadrantenweise Vorgehensweisen mit dem Einsatz von Handinstrumenten und/oder maschinellen Verfahren nebeneinander Anwendung (Tunkel et al. 2002, Suvan 2005). Das Konzept der „Full Mouth Disinfection“ (FMD) kombiniert dabei die mechanische Reinigung aller bakteriell kontaminierten Wurzeloberflächen innerhalb von 24h mit einer intensiven Desinfektion mittels antibakteriell wirksamer Gele und Spüllösungen vor, während und nach der Behandlung (Quirynen et al. 1995/2000). Basierend auf der vorhandenen Evidenz können die unterschiedlichen Therapieformen jedoch alle als valide angesehen werden, so dass sowohl etappenweises Scaling und Wurzelglätten, als auch eine Full-Mouth-Therapie mit oder ohne Antiseptika nebeneinander einen berechtigten Platz in der Parodontistherapie haben (Eberhard et al. 2008/2015). Die antiinfektiöse Therapie kann indikationsbezogen durch eine adjuvante systematische Antibiose ergänzt werden (Harks et al. 2015). Für Validität der Wirkung einer Wirkstoffkombination aus Metronidazol und Amoxicillin (van Winkelhoff et al. 1989, Winkel et al. 2001) ist hierbei die größte Evidenz verfügbar, so dass sie den diesbezüglichen Goldstandard darstellt (Haffajee et al. 2003, Herrera et al. 2008, Guerrero et al. 2005, Walter et al. 2011b). Nach Abschluss einer anschließenden parodontalen Heilungsphase von üblicherweise zwölf Wochen erfolgt eine Reevaluation der parodontalen Erkrankungssituation, an die sich im Bedarfsfall eine chirurgisch korrektive Phase anschließt, die der chirurgischen Reduktion eventuell noch verbliebener pathologischer Zahnfleischtaschen dient. Nach Abschluss der systematischen Parodontaltherapie werden die betroffenen Patienten üblicherweise im Rahmen einer meist lebenslang erforderlichen professionellen Nachsorge in die so genannte Erhaltungsphase überführt. Sie erhalten in regelmäßigen, am individuellen Risikoprofil angepassten Abständen eine unterstützende Parodontaltherapie, die eine Kontrolle der parodontalen Entzündungssituation sowie eine erneute mechanische Reinigung exponierter Wurzeloberflächen von aufgewachsenen bakteriellen Biofilmen beinhaltet. Die beschriebene Vorgehensweise im Rahmen der Parodontistherapie gilt in dieser Form als

allgemein akzeptierter Behandlungsstandard. Es gelingt jedoch nicht, auf diesem Wege vorhersagbar, langfristig und dauerhaft die parodontitisassoziierten Keime des „Red Complex“ aus der Mundhöhle zu eliminieren.

Neuere parodontale Therapiekonzepte weichen aufgrund der Evidenz aus klinisch-experimentellen Studien in der Bewertung der parodontalen Befunde und der daraus abgeleiteten Therapiekonsequenzen teilweise erheblich vom bislang Konventionellen ab. Darauf aufbauend haben sich entsprechend angepasste Vorgehensweisen, wie beispielsweise das „Würzburger Konzept“, etabliert (*Schlagenhauf et al. 2016a*). So erfolgen Mundhygieneinstruktionen nach dieser Schule erst nach professioneller Elimination der subgingivalen Entzündung, da es als erwiesen gilt, dass die Stärke der Plaque-Neubildung in hohem Maße mit der Entzündungsstärke im Parodontium korreliert (*Ramberg et al. 1995, van der Velden 2006, Tonetti et al. 2007*). Generell erweitert das „Würzburger Konzept“ signifikant die Grenzen der Erhaltung parodontal geschädigter Zähne sowie den Personenkreis, der für eine systematische Parodontaltherapie geeignet erscheint.

Trotz des Fehlens kontrollierter klinischer Studien zur Wirksamkeit von Lebensstilmodulationen in der Kontrolle parodontaler Erkrankungen, werden die Behandlungskonzepte auf der Grundlage des aktuellen Ätiologieverständnisses entsprechend ergänzt. Es gilt hier, anerkannte Risikofaktoren zu minimieren, wie z. B. durch Raucherentwöhnung, Ernährungsberatung im Sinne einer gesundheitskompatiblen Ernährung oder die Reduktion von psychosozialen Stress.

Aktuelle Forschungen richten ihre Anstrengungen vor dem Hintergrund des derzeitigen Wandels grundlegender ätiologischer Rahmenbedingungen auf neue Behandlungsmodalitäten. Dies gilt insbesondere auch für mögliche pharmakologische Interventionen zur Behandlung der Parodontitis als entzündliche Erkrankung (*Hasturk et al. 2012*). Grundsätzlich werden derzeit bisher etablierte Konzepte überdacht und neuartige Behandlungsprotokolle entwickelt. Diese konzentrieren sich vermehrt auf die Kontrolle, Modifikation oder Auflösung krankheitsförderlicher Wirtsreaktionen und die Faktoren, die diese Wirtsreaktion modellieren wie beispielsweise Genetik, immunologische und entzündliche

Antworten, Stress, Rauchen, Diät, soziale Determinanten und allgemeine Gesundheit. Die bis dato vorherrschende alleinige Fokussierung auf die mechanische Elimination infektiöser bakterieller Biofilme, die möglicherweise auf die Erkrankung und nicht auf die Krankheit zurückzuführen ist, tritt in den Hintergrund (*Barthold/van Dyke* 2013, *Hajishengallis* 2014a, *Hasturk/ Kantarci* 2015).

1.2 Probiotika

1.2.1 Allgemeine Grundlagen

Definition

Die Bezeichnung „Probiotikum“ leitet sich als Hybridwort aus dem lateinischen „pro“ und dem griechischen „bios“ ab und bedeutet demnach „für das Leben“.

Das Verständnis und die Bedeutung des Begriffs „Probiotika“ haben sich im Laufe der letzten Jahrzehnte mehrfach geändert. Nach einer 2002 publizierten Definition der *Food and Agriculture Organization (FAO)* und der *World Health Organization (WHO)* versteht man heute unter Probiotika „lebende Mikroorganismen, die, wenn in ausreichender Menge verabreicht, dem Wirtsorganismus einen gesundheitlichen Nutzen bringen“ (FAO/WHO 2002). Probiotika werden für den Verbraucher in unterschiedlichen Darreichungsformen zur oralen Aufnahme angeboten. Sie werden beispielsweise Lebensmitteln zugesetzt oder in Form von Kapseln, Tabletten, Pulvern oder Flüssigkeiten als Nahrungsergänzungsmittel angeboten oder in Form von Arzneimitteln verabreicht. Die am längsten und häufigsten als Probiotika verwendeten Organismen sind Milchsäurebakterien, aber auch Hefen und andere Spezies werden therapeutisch genutzt (Schulze et al. 2008).

Davon abzugrenzen sind sogenannte Präbiotika, spezifische unverdauliche Stoffe, überwiegend Poly- oder Oligosaccharide, die selektiv Bifidobakterien und möglicherweise auch andere Mikroorganismen in ihrem Wachstum im Darm fördern und dadurch positive gesundheitliche Wirkungen erzielen. Kombinationen aus probiotischen Mikroorganismen und präbiotischen Kohlenhydratpolymeren, die deren Vorteile synergistisch in sich vereinigen, werden als Synbiotika bezeichnet (Gibson/Roberfroid 1995).

Zulassung/Unbedenklichkeit

Probiotika in Lebens- und Nahrungsergänzungsmitteln werden in Europa durch die *European Food Safety Authority (EFSA)* zugelassen, so dass beim Zulassungsverfahren die Wirksamkeit und die Unbedenklichkeit des Präparates nicht entsprechend des Arzneimittelgesetzes durch experimentelle und wissenschaftliche Studien nachgewiesen werden müssen. Die *FAO/WHO*-Richtlinien für Probiotika als globaler Standard sehen aber sehr wohl u. a. neben einer funktionellen Charakterisierung der einzelnen probiotischen Stämme hinsichtlich ihrer Sicherheit und ihrer probiotischen Eigenschaften auch eine Validierung des jeweiligen gesundheitlichen Nutzens in Humanstudien vor. Diese Anforderungen können allerdings nur wenige probiotische Stämme erfüllen.

Die gesundheitliche Unbedenklichkeit bei den traditionell in Lebensmitteln eingesetzten Milchsäurebakterien ist ausreichend belegt (*Adams/Marteau* 1995). Tatsächlich gelten die meisten Probiotika schon aufgrund ihres natürlichen Vorkommens in der Mikrobiota von Säugetieren und/oder ihrer jahrhundertelangen etablierten Verwendung als sicher (*Bernardeau et al.* 2006, BgVV 1999).

Laktobazillen und Bifidobakterien verursachen ebenso wie Probiotika mit diesen Organismen extrem selten Infektionen bei Menschen. Dieser Mangel an Pathogenität gilt für alle Altersgruppen und auch für immungeschwächte Individuen. Diese relative Sicherheit gilt für Stämme, die aus der Kommensalmikrobiota des Menschen isoliert wurden. Sie sollten keine intrinsische Resistenz gegen Antibiotika tragen, die die Behandlung einer seltenen probiotischen Infektion verhindern würden (*Borriello et al.* 2003).

Nebenwirkungen, die mit dem Konsum probiotischer Produkte assoziiert worden sind, sind generell sehr selten und betreffen dann Patienten mit bestimmten Grunderkrankungen. In diesem Zusammenhang werden systemische Infektionen, schädliche Stoffwechselaktivitäten, übermäßige Immunstimulation bei anfälligen Individuen oder auch Gentransfer diskutiert (*Marteau* 2002). Der Einsatz von Probiotika bei ansonsten gesunden Personen gilt als sicher. Vorsicht ist bei bestimmten Risikopatienten und bei neu entwickelten probiotischen Stämmen geboten (*Boyle et al.* 2006).

Wirkung

Probiotika beeinflussen die Evolution und die Stabilität des menschlichen Mikrobioms (*Fuller 1989*). Dabei interagieren sie sowohl mit der wirtseigenen Mikrobiota als auch mit dem Wirtsorganismus selbst und verfügen auf diese Weise über ein breites, aber individuell unterschiedliches, Wirkungsspektrum, dessen genaue Mechanismen noch nicht alle vollständig geklärt sind. Es hat sich gezeigt, dass Wirksamkeit und -mechanismus probiotischer Mikroorganismen evident stammspezifisch und nicht gattungs- oder speziesspezifisch sind. Darüber hinaus können mögliche Wirkungen von Probiotika prinzipiell auch Umwelteinflüssen unterliegen (*de Vrese/Schrezenmeir 2008*).

Grundsätzlich lassen sich drei unterschiedliche mutmaßliche Wirkprofile von Probiotika charakterisieren. Probiotika können sowohl die angeborene als auch die erworbene Immunabwehr des Wirts auf vielfältige Weise modulieren, andere Mikroorganismen direkt beeinflussen oder auch auf mikrobielle Produkte, Wirtsprodukte oder Nahrungsmittelbestandteile wirken (*Ölschläger 2010*).

Unter dem Überbegriff antagonistischer mikrobieller Interaktion kann man Adhäsions- und Nährstoffkonkurrenz oder die Produktion antimikrobieller Substanzen, wie z. B. Bakteriocine, Säuren oder Peroxide, die das Wachstum von Pathogenen hemmen oder diese abtöten, subsumieren. In diesem Zusammenhang kann Zellproliferation modelliert und Apoptose induziert werden. Im Rahmen synergistischer mikrobieller Interaktion sind Milieubereitung oder Biofilmbildung genauso zu nennen, wie Interaktionen beim mikrobiellen Stoffwechsel (*Devine/Marsh 2009*). Probiotika wirken aber nicht ausschließlich durch Beeinflussung der Mikrobiota (*Teughels et al. 2011*). Sie stimulieren und modellieren vielfältige immunologische Parameter; so können Probiotika beispielsweise durch die Veränderung des Gleichgewichts von proinflammatorischen und entzündungshemmenden Zytokinen die epitheliale Permeabilität beeinflussen und Effekte im Rahmen bakterieller Translokation oder aber durch Bereitstellung von bioaktiven oder regulatorischen Metaboliten ausüben (*de Vrese/Schrezenmeir 2008*). Probiotika können nicht nur das Überwachsen endogener Pathogene hemmen oder eine Superinfektion mit

exogenen Pathogenen verhindern, sondern sie können auch den Körper durch die Förderung einer gesundheitlich vorteilhaften Wirtsreaktion vor möglichen Schäden schützen (*Roberts/Darveau 2002*).

Welche spezifische Wirkung ein bestimmtes Probiotikum erzielen kann, hängt von seinen metabolischen Eigenschaften, den Molekülen an seiner Oberfläche und den Substanzen ab, die es sezerniert. Selbst integrale Teile der Bakterienzelle wie ihre DNA oder die Peptidoglycane ihrer Zellwand können für die probiotische Wirksamkeit von Bedeutung sein. Die individuelle Kombination verschiedener Eigenschaften in einem bestimmten probiotischen Stamm bestimmt seine spezifische probiotische Wirkung und damit auch die wirksame Anwendung für die Prävention und/oder Behandlung einer bestimmten Krankheit (*Ölschläger 2010*). Darüber hinaus können auch Unterschiede in der indigenen intestinalen Mikrobiota die Wirkung eines Probiotikums signifikant verändern (*Ohashi/Ushida 2009*).

Aller Wahrscheinlichkeit nach gibt es kein einziges probiotisches Bakterium, das alle bislang beschriebenen Wirkungen auf sich vereinigen kann, zumindest nicht so, dass es ein Mittel zur Prävention oder Therapie verschiedenster Arten von Erkrankungen sein könnte (*Bonifait et al. 2009, Oelschlaeger 2010*). Daher werden probiotische Stämme oft in Kombination miteinander verwendet, um die Anzahl der positiven Effekte zu erhöhen (*Teughels et al. 2008*).

Anwendung in der Medizin

Die positive Wirkung von Probiotika in der Prävention und Therapie bestimmter Erkrankungen ist seit langem anekdotisch evident. Seit den ersten populärwissenschaftlichen Hinweisen vor über 100 Jahren von *Metchnikoff* 1901 und *Nissle* 1931 wird die Wirkung von Probiotika mittlerweile intensiv erforscht. Traditionell wurden Probiotika bislang mit der Darmgesundheit assoziiert, so dass sich das klinische Interesse vor allem auf die Prävention oder Behandlung von gastrointestinalen Infektionen und Krankheiten konzentriert hat (*Haukioja* 2010). Eine Anwendung in diesem Bereich ist daher weit verbreitet. Die Liste der Erkrankungen, die möglicherweise mit Probiotika behandelt oder verhindert werden können, wurde in den letzten Jahren kontinuierlich länger. Allerdings ist die Studienlage bezüglich der einzelnen Erkrankungen sehr unterschiedlich. Während für einige Erkrankungen bereits prospektive, kontrollierte Studien vorliegen, gründen sich die Hinweise möglicher positiver Effekte bei vielen anderen Erkrankungen auf Fallberichte oder allenfalls unkontrollierte Studien (*Fooks/Gibson* 2002).

Probiotika sind beispielsweise in der Erhaltungstherapie von Colitis ulcerosa und chronisch rezidivierender oder refraktärer Pouchitis genauso etabliert (*Böhm/Kruis* 2006) wie in der Prävention antibiotika-assoziiertes Diarrhöe (*D'Souza et al.* 2002). Sie werden erfolgreich bei Kleinkindern im Rahmen infektiöser Diarrhöen, bei sogenannten 3-Monatskoliken oder zur Prävention der nekrotisierenden Enterocolitis bei Frühgeborenen eingesetzt (*AlFaleh/ Anabrees* 2014, *Anabrees et al.* 2013).

Die Verwendung von Probiotika ist aber nicht auf gastrointestinale Störungen beschränkt. Studien zur Bewertung ihrer Anwendung in der Dermatologie, Allergologie, Urologie und Zahnmedizin haben zugenommen (*Vuotto et al.* 2014). Darüber hinaus wurden vielversprechende Anwendungsbeispiele in der Krebsforschung (*Ishikawa et al.* 2005), der Behandlung von Adipositas (*Poutahidis et al.* 2013a, *Mekkes et al.* 2014) und ein positiver Einfluss auf Depressionen beschrieben (*Wallace/Milev* 2017).

1.2.2 Probiotika in der Zahnmedizin

Probiotika finden gegenwärtig in den etablierten Prophylaxe- und/oder Therapiekonzepten der Zahnheilkunde nur sehr eingeschränkt Anwendung und sind daher kein allgemein etablierter Standard. In den letzten Jahren lässt sich aber ein zunehmendes Interesse an dem Thema Probiotika und Mundgesundheit an der steigenden Anzahl der diesbezüglichen Publikationen ablesen. Diverse probiotische Laktobazillus-, Bifidobakterien- und Streptokokkus-Stämme sind in der Lage, nach oraler Einnahme die Mundhöhle vorübergehend zu kolonisieren und dabei lokal eine gesundheitsförderliche Wirkung zu entfalten, deren Hintergründe im Detail vielfach noch nicht umfassend geklärt ist (*Meurman/Stamatova 2007, Devine/Marsh 2009*). Darüber hinaus werden aber auch die Auslösung systemisch wirksamer Effekte nach Probiotikakonsum diskutiert (*Caglar et al. 2006*).

Vor dem Hintergrund, dass Laktobazillen auch die dominierende Keimart in kariösem Dentin darstellen, wurden mehrere Studien durchgeführt, um mögliche negative Folgen der oralen Anwendung probiotischer Laktobazillen für die Integrität der Zahnhartsubstanzen ausschließen zu können. Bislang gibt es jedoch keine Anhaltspunkte dafür, dass die tägliche Einnahme probiotischer Laktobazillen die Azidogenität der oralen Mikrobiota so entscheidend beeinflussen würde, dass kariöse Schäden an den Zahnhartsubstanzen als Nebenwirkung zu befürchten wären (*Marttinen et al. 2012, Keller/Twetman 2012*).

Zahlreiche Untersuchungen zu den Auswirkungen verschiedenster pro-biotischer Stämme in diversen Darreichungsformen geben deutliche Hinweise darauf, dass bestimmte Stämme probiotischer Mikroorganismen eine signifikant förderliche Wirkung auf den Status der Mundgesundheit ausüben. So wurde beispielsweise gezeigt, dass *Lactobacillus brevis* im Tierversuch den Verlauf von Parodontitis mittels Modulation der körpereigenen Immunantwort und durch die Beeinflussung der parodontalen Mikrobiota retardieren konnte (*Maekawa/ Hajishengallis 2014*). Bestimmte Laktobazillenstämme hemmen in unterschiedlichem Ausmaß das Wachstum von *Streptococcus mutans* (*Lin et al. 2015*) oder beeinflussen die Bindung von Mutans-Streptokokken an mit Speichel beschichtetes Hydroxylapatit (*Marttinen et al. 2013*). Darüber hinaus konnte auch eine Hemmung des

Wachstums verschiedener parodontalpathogener Keime in Anwesenheit etlicher Laktobazillenstämme beobachtet werden (Köll et al. 2008). Jäsberg erkannte *in vitro* neben einem limitierten Einfluss von Bifidobakterien auf den supragingivalen Biofilm einen positiven Effekt dieser Bakterien auf den subgingivalen Biofilm und stellte dort insbesondere eine signifikante Hemmung des Wachstums von *Porphyromonas gingivalis* fest (Jäsberg et al. 2016). Aktuell konnten auch die antifungalen Eigenschaften von *Lactobacillus reuteri* gegen fünf der sechs häufigsten oralen *Candida*-Arten gezeigt werden (Jørgensen et al. 2017).

In diversen Übersichtsarbeiten der letzten Jahre wurde das jeweils verfügbare klinische Wissen hinsichtlich der Wirkung von Probiotika in der Mundhöhle zusammengetragen und entsprechend bewertet. Schon vor über zehn Jahren sah Meurman keinen Grund anzunehmen, dass die vermeintlichen probiotischen Wirkmechanismen im Mund nicht die gleichen wie in anderen Teilen des Magen-Darm-Traktes seien. Es lägen wissenschaftliche Daten vor, dass insbesondere Laktobazillen- und Bifidobakterienstämme in der Mundhöhle vorteilhafte Effekte ausüben könnten, indem sie kariogene Streptokokken und *Candidaspezies* hemmen. Allerdings betonte er, dass die Datenlage noch spärlich sei und unbedingt ausgebaut werden müsse, um die Wirksamkeit von Probiotika zu beweisen und auf diesem Wege ggf. Karies verhindern oder behandeln zu können (Meurman 2005). Dieser Mangel an klinischer Evidenz, aber auch an systematischen *in-vitro*-Studien zu den genauen probiotischen Wirkmechanismen der einzelnen Bakterienstämme, besteht auch im Zusammenhang mit Probiotika und Parodontalerkrankungen (Stamatova/ Meurman 2009). Auch Devine und Marsh sehen das Potenzial probiotischer Bakterien zur Einflussnahme auf die Mundgesundheit. Sie beschreiben deutliche Hinweise auf mögliche gesundheitsförderliche Effekte einzelner Stämme, verweisen aber auch auf mögliche Risiken. Insgesamt resümieren sie, dass grundlegende Forschungsanstrengungen bezüglich der Ätiologie oraler Erkrankungen notwendig wären, um dann ggf. gezieltere therapeutische Ansätze unter Zuhilfenahme von Probiotika in diesem Bereich entwickeln zu können (Devine/Marsh 2009).

Zu ähnlichen Ergebnissen hinsichtlich der lückenhaften wissenschaftlichen Evidenz kommen auch neuere Übersichtsarbeiten. Unter Berücksichtigung aller Einschränkungen kommt *Teughels* zu dem Schluss, dass die derzeit verfügbaren Daten eine Wirkung von Probiotika auf die orale Mikrobiota belegen und Probiotika auch das Ergebnis klinischer Parodontalbehandlung positiv beeinflussen können. Allerdings besteht auch seiner Einschätzung nach ein dringender Bedarf an kontrollierten klinischen Studien mit probiotischen Stämmen, deren Wirksamkeit zuvor *in vitro* bewiesen sein müsse (*Teughels et al. 2011*). Desgleichen werden Probiotika mögliche positive Effekte in der Prävention der Karies attestiert (*Cagetti et al. 2013, Laleman et al. 2014, Pandey et al. 2015*). Im Rahmen der nichtchirurgischen Parodontaltherapie konnte nach adjunctiver Gabe von Probiotika ein statistisch signifikant höherer Attachmentgewinn festgestellt werden (*Martin-Cabezas et al. 2016*). Die vorliegende Studienlage ergibt aber auch hier keine ausreichende wissenschaftliche Evidenz, die eine Etablierung des prophylaktischen oder therapeutischen Einsatzes von Probiotika fundiert begründen würde (*Allaker/Douglas 2015*).

Kontrollierte klinische Studien in den Bereichen Kariesprävention, Therapie von Gingivitis, Parodontitis, Periimplantitis oder Halitosis kamen zu unterschiedlichen, aber überwiegend positiven Ergebnissen. Es konnte die signifikante Verminderung der Plaquemenge und der gingivalen Entzündung bei Schulkindern unter dem Einfluss von Laktobazillen in Quark genauso nachgewiesen werden (*Karuppaiah et al. 2013*) wie reduziertes Zahnfleischbluten nach der Verwendung von *Lactobacillus reuteri*-haltigem Kaugummi (*Krasse et al. 2006*). *Lactobacillus brevis* verzögerte die Gingivitis-Entwicklung bei experimenteller Gingivitis (*Lee et al. 2015*) und Lutschtabletten mit *Lactobacillus rhamnosus* und *Bifidobacterium animalis* führten zu einer Verbesserung des parodontalen Status (*Toiviainen et al. 2015*). Dem probiotischen Milch-Getränk Yakult wurde ein vorteilhafter Effekt hinsichtlich der Entwicklung einer gingivalen Entzündung attestiert (*Staab et al. 2009*), wobei in einer anderen Studie zur Auswirkung dieses probiotischen Drinks auf die orale Mikrobiota von Prothesenträgern kein signifikanter Effekt bei gesunden Probanden festgestellt werden konnte (*Sutula et al. 2012*). *Laleman* konnte bei therapiebegleitender Gabe von probiotischen

Tabletten mit verschiedenen Streptokokken-Stämmen im Rahmen nicht-chirurgischer Parodontaltherapie keinen signifikanten Beweis für zusätzliche Auswirkungen finden (Laleman et al. 2015). Im Gegensatz dazu führten Studien mit *Lactobacillus reuteri* in diesem Zusammenhang zu positiven Ergebnissen (Vivekananda et al. 2010, Teughels et al. 2013, Ince et al. 2015).

Insgesamt ist die Anzahl der verschiedenen probiotischen Stämme, deren Wirkung untersucht wird, vielfältig, aber für keinen einzelnen Stamm erschöpfend. Für viele Stämme existieren lediglich fragmentarische Untersuchungen. Stammübergreifende Schlussfolgerungen zur Wirkung sind vor dem Hintergrund des evident stammspezifischen Wirkprofils von probiotischen Keimen unzulässig. Eine verhältnismäßig gut untersuchte Spezies mit überwiegend positiven Ergebnissen ist *Lactobacillus reuteri*, so dass sich Probiotika mit diesem Bakterium als potentiell erfolgversprechend für weitere Forschungsanstrengungen anbieten.

1.2.3 *Lactobacillus reuteri*

Lactobacillus reuteri (*L. reuteri*) gehört innerhalb der Ordnung der *Lactobacillales*, also der Milchsäurebakterien, zur Familie der *Lactobacillaceae*. *L. reuteri* wurde erstmalig 1962 isoliert und zunächst als ein spezifischer Stamm von *Lactobacillus fermentum* eingruppiert (Reuter 1965). Knapp 20 Jahre später wurde *L. reuteri*, benannt nach seinem „Entdecker“ Gerhard Reuter, als eigene Spezies in der Laktobazillenfamilie beschrieben (Kandler et al. 1980). *L. reuteri* ist apathogen und erfüllt die Anforderungen an einen probiotischen Keim. Es handelt sich um ein grampositives, nicht sporenförmiges, nicht bewegliches, fakultativ anaerobes, stabförmiges, säure- und galleresistentes Bazillus aus der Gruppe der obligaten Heterofermentationsarten, das optimale Wachstumsbedingungen bei einer Temperatur zwischen 37°C und 42°C sowie einem pH-Wert von etwa 6,5 vorfindet. Wenn unter diesen Rahmenbedingungen leicht fermentierbare Zucker, Aminosäuren, Vitamine und Nukleotide vorhanden sind, wachsen *L. reuteri*-Stämme mit Duplizierungsraten von unter einer Stunde sehr schnell (Gerez et al. 2008).

L. reuteri kommt natürlicherweise im Gastrointestinaltrakt und der Muttermilch von Säugetieren sowie bei Vögeln vor, wobei jede Tierart ihre eigenen wirtsspezifischen Stämme zu haben scheint. Innerhalb einer Art kommt es hingegen kaum zu Variationen. Es gibt Hinweise dafür, dass sich humane *L. reuteri*-Stämme in einer Wirtskoevolution entwickelten und unterschiedliche funktionelle, symbiotische Bedeutungen im menschlichen Mikrobiom haben (Spinler et al. 2014). Obwohl *L. reuteri* physiologisch beim Menschen vorkommt und als autochthon für den menschlichen Verdauungstrakt betrachtet wird, wird dieser Keim aber nicht bei allen Individuen gefunden (Reuter 2001, Walter 2008, Frese et al. 2011). Reuter und Mitsuoka, die in den 1960er und 1970er Jahren intensiv die Laktobazillenbiota des menschlichen Verdauungstraktes untersuchten, beschrieben *L. reuteri* als eine der dominanten Laktobazillenspezies, die regelmäßig nachgewiesen wurde (Reuter 2001, Mitsuoka 1992). Die niedrige Prävalenz bei Menschen in neueren Studien deutet auf eine Verringerung der *L. reuteri*-Populationen in den letzten 50 Jahren hin (Walter et al. 2011a).

Die orale Aufnahme von *L. reuteri*-haltigen Probiotika führt sehr schnell zu einer starken Erhöhung der Anzahl dieser Milchsäurebakterien in der Mundhöhle. Innerhalb von wenigen Tagen nach Absetzen des Präparates lässt sich *L. reuteri* dort aber nicht mehr nachweisen, so er nicht, wie bei etwa 10% der Bevölkerung, zur natürlichen kommensalen oralen Mikrobiota gehört (Sinkiewicz et al. 2010). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die orale Aufnahme von Nahrungsergänzung mit *L. reuteri* eine signifikante Kolonisation des Magens, des Duodenums und des Ileums gesunder Menschen induziert (Valeur et al. 2004).

Wirkung

L. reuteri wird ein breites Spektrum an biotherapeutischen und prophylaktischen Effekten attestiert (Casas/Dobrogosz 2000).

L. reuteri produziert viele der essentiellen B-Vitaminkomplexe (Santos et al. 2008, Capozzi et al. 2012) und verfügt über die Fähigkeit zur Histaminsynthese (Thomas et al. 2012). Er ist in der Lage an Epithelzellen anzuheften (Mukai et al. 2002) und Biofilme zu bilden, die potentiell nützliche Funktionen übernehmen können (Jones/Versalovic 2009). Es werden auch unterschiedliche Mechanismen der Immunmodulation durch *L. reuteri* diskutiert. Die externe Zufuhr von *L. reuteri* wirkt sich konsequent auf lokale Immunzellenpopulationen aus und ist mit signifikanten Veränderungen der Immunantwort in der Magen-Darm-Schleimhaut assoziiert (Valeur et al. 2004). *L. reuteri* ist offenbar in der Lage, unterschiedlichste Zytokine zu beeinflussen. So kann *L. reuteri* beispielsweise die Transkription von humanem Tumornekrosefaktor regulieren (Lin et al. 2008). Auch systemische Effekte werden diskutiert. Beispielhaft ist in diesem Zusammenhang die Beschreibung einer beschleunigten Wundheilung über die Freisetzung des Neuropeptidhormons Oxytocin nach systemischer Gabe von *L. reuteri* (Poutahidis et al. 2013b).

L. reuteri gilt als ein erfolgreicher Wachstumsinhibitor von pathogenen Mikroorganismen. Dafür macht man verschiedene Mechanismen, wie die Ausscheidung von Milchsäure, Essigsäure und kurzkettigen Fettsäuren, Wasserstoffperoxid und antimikrobiellen Substanzen verantwortlich. Zu den antimikrobiellen Substanzen, die *L. reuteri* produziert, gehören Reuterin (Talarico et al. 1988, Axelsson et al. 1989), Reutericin (Kabuki et al. 1997) und Reutericyclin (Gänzle et al. 2000).

Reuterin ist eine Mischung aus verschiedenen Formen von 3-Hydroxypropionaldehyd, die von *L. reuteri* durch die Dehydratation von Glycerol produziert wird und der ein Teil der gesundheitsförderlichen, probiotischen Eigenschaften dieses Mikroorganismus zugeschrieben wird. Reuterin wirkt in Verbindung mit anderen von *L. reuteri* freigesetzten Stoffen bakterizid und bakteriostatisch auf eine breite Palette von grampositiven und gramnegativen Bakterien, Hefen und Protozoen (Talarico/Dobrogosz 1989). Obwohl viele

Bakterien die Fähigkeit haben, Glycerin zu reduzieren, ist *L. reuteri* aufgrund der großen Menge an Reuterin, die dieser Keim sezernieren kann, einzigartig. In diesem Zusammenhang kann die Anwesenheit anderer Bakterien die Reuterinproduktion stimulieren. *L. reuteri* selbst ist sehr viel widerstandsfähiger gegenüber Reuterin als die meisten anderen Bakterien, was ihm mutmaßlich einen Wachstumsvorteil zu anderen konkurrierenden Organismen verschafft und darauf hinweist, dass die antimikrobielle Aktivität von Reuterin von ökologischer und evolutionärer Bedeutung ist (Cleusix et al. 2008). Der exakte Wirkmechanismus, durch den Reuterin seine antimikrobiellen Wirkungen ausübt, ist noch nicht vollständig geklärt. Es konnte aber gezeigt werden, dass Reuterin durch Modifizierung von Thiolgruppen in Proteinen und kleinen Molekülen oxidativen Stress in Zellen induziert und so das Bakterienwachstum hemmt (Schäfer et al. 2010).

Reutericyclin (eine Tetraminsäure) wirkt bakteriostatisch oder bakteriozid gegenüber grampositiven Bakterien. Gramnegative Bakterien und Hefen sind aber aufgrund der Barriereigenschaften ihrer äußeren Membran gegenüber Reutericyclin resistent (Gänzle et al. 2000).

Alle beschriebenen möglichen Wirkungsweisen von *L. reuteri* sind evident stammspezifisch und gelten somit nicht für alle *L. reuteri*-Stämme gleichermaßen. In diesem Zusammenhang konnten Jones und Versalovic auf der Grundlage ihrer Untersuchungen zur Biofilmbildung und Produktion von antimikrobiellen und antiinflammatorischen Faktoren von *L. reuteri*-Stämmen eine Unterteilung in immunsuppressive (ATCC PTA 6475 und ATCC PTA 5289) und immunstimulatorische Stämme (ATCC 55730 und CF48-3A) vornehmen, von denen jede Teilmenge einen potentiellen therapeutischen Wert haben könnte (Jones/Versalovic 2009). Eine sorgfältige probiotische Stammselektion in zukünftigen therapeutisch orientierten klinischen Studien ist also unumgänglich.

Klinische Anwendung

Sicherheit

In keiner der nachfolgend aufgeführten Studien zur klinischen Anwendung von *L. reuteri* wurde, von leichten Blähungen abgesehen, über unerwünschte Wirkungen berichtet, so dass die klinische Anwendung als sicher gilt.

Allgemeine Erkrankungen

Eine gesundheitlich positive Wirkung von verschiedenen *L. reuteri*-Stämmen in diversen Darreichungsformen in unterschiedlichen Anwendungsgebieten konnte bereits in vielen klinischen Studien gezeigt werden. *L. reuteri* ATCC 55730 hat sich beispielsweise bei Kindern als therapeutisches Mittel bei akutem Durchfall und durch Rotaviren verursachte Gastroenteritis bewährt (Shornikova et al. 1997a/b). In Kombination mit *Bifidobacterium lactis* Bp12 kam es zur Senkung der Infektionsrate (Weizman et al. 2005) und in Kombination mit *Lactobacillus acidophilus* und *Bifidobacterium infantis* wurde *L. reuteri* erfolgreich zur Prävention von Durchfallerkrankungen bei Kindergartenkindern (Ruiz-Palacios et al. 1996) eingesetzt. Die Gabe von *L. reuteri* DSM 17938 linderte kolikartige Symptome bei brustgefütterten Säuglingen (Savino et al. 2010). Das Allergierisiko bei Kindern kann möglicherweise durch *L. reuteri* ATCC 55730 reduziert werden (Abrahamsson et al. 2007, Forsberg et al. 2013/2014). Weiterhin konnte beobachtet werden, dass während der Einnahme von *L. reuteri* ATCC 55730 Atemwegserkrankungen und Magen-Darm-Infektionen bei vorher gesunden Erwachsenen signifikant seltener auftraten als in einer Vergleichsgruppe (Tubelius et al. 2005). *L. reuteri* SD 5865 wird darüber hinaus als neuartiger therapeutischer Ansatz zur Verbesserung der glukoseabhängigen Insulinfreisetzung diskutiert (Simon et al. 2015).

Mundhöhle

L. reuteri DSM 17938/ATCC PTA 5289-haltige Kaugummis minderten Mundgeruch auf der Grundlage organoleptischer Parameter (Keller et al. 2012a) und dezimierten oralen Candidabefall bei gebrechlichen älteren Pflegeheimbewohnern, bei denen aber in diesem Zusammenhang zeitgleich keine signifikante

Reduktion der Plaquebedeckung oder der klinischen Entzündungswerte festgestellt werden konnte (*Kraft-Bodi et al. 2015*).

Karies

Es wurde wiederholt gezeigt, dass die Kombination *L. reuteri* ATCC 55730/ ATCC PTA 5289 die Anzahl der Mutans-Streptokokken im Speichel und somit das Kariesrisiko signifikant reduzieren kann (*Nikawa et al. 2004, Caglar et al. 2006/2007/2008, Ericson et al. 2013*), auch wenn dieser Effekt nicht in allen durchgeführten Studien beobachtet werden konnte (*Keller et al. 2012b*).

Hinsichtlich der Prävalenz von Karies wird darüber hinaus vermutet, dass sich die Einnahme von *L. reuteri* ATCC 55730 bereits durch die werdende Mutter im letzten Monat der Schwangerschaft und fortgesetzt während des ersten Lebensjahres durch das Kind positiv im Sinne einer verminderten Karieshäufigkeit im späteren Alter des Kindes auswirkt (*Stensson et al. 2014*). Eine durch *L. reuteri* DSM 17938/ATCC PTA 5289 verursachte vermutete geringere Demineralisation bei Initialkaries konnte experimentell nicht statistisch verifiziert werden (*Keller et al. 2014*).

Parodontale Erkrankungen

Unter der Einnahme von *L. reuteri* ATCC 55730/ATCC PTA 5289 konnte in kontrollierten klinischen Studien eine signifikante Reduzierung der Entzündungszeichen der Gingiva (*Krasse et al. 2006*) sowie eine deutliche Verminderung des Sulkusfluid bei gleichzeitiger Abnahme spezifischer Entzündungsmediatoren (*Twetmann et al. 2009*) beobachtet werden. In einer anderen Studie zeigten sich diese signifikanten Unterschiede in der Entwicklung der gingivalen Entzündung nicht (*Hallström et al. 2013*). Es konnten klinische Verbesserungen parodontaler Parameter bei Patienten mit leichter bis mittelschwerer Parodontitis durch die Einnahme von *L. reuteri* DSM 17938/ ATCC PTA 5289 gezeigt werden (*Vicario et al. 2013*). *Schlagenhauf* konstatierte einen bedeutsamen Rückgang von Schwangerschaftsgingivitis in Verbindung mit *L. reuteri* DSM 17938/ATCC PTA 5289 (*Schlagenhauf et al. 2016b*) sowie eine erhebliche Verringerung von periimplantärer Mukositis bei Gabe der gleichen probiotischen Kombination (*Hussein 2016*), was die Ergebnisse von *Flichy-*

Fernandez unterstreicht (*Flichy-Fernandez et al. 2015*). Adjunktiv zum konventionellen Debridement im Rahmen der Therapie von periimplantärer Mukositis konnte dagegen kein über die Standardtherapie hinausgehender Nutzen von *L. reuteri* DSM 17938/ ATCC PTA 5289 festgestellt werden (*Hallström et al. 2016*).

Bei Gingivitis-Patienten kam es zu einer Dezimierung bestimmter parodontal-pathogener Keime, allerdings ohne die damit assoziierte klinische Veränderung beobachten zu können (*Iniesta et al. 2012*). *Szkaradkiewicz* konnte hingegen bei Patienten mit chronischer Parodontitis sowohl bezogen auf eine Reduktion der proinflammatorischen Zytokine als auch auf eine Verbesserung der klinischen Parameter positive Effekte durch *L. reuteri* DSM 17938/ATCC PTA 5289 aufzeigen (*Szkaradkiewicz et al. 2014*).

Es liegen deutliche Hinweise vor, die *L. reuteri* als ein vielversprechendes ergänzendes Therapeutikum im Rahmen der nicht-chirurgischen Parodontaltherapie ausweisen (*Martin-Cabezas et al. 2016*). Während *Vivekananda* die Effekte einer ausschließlichen probiotischen Therapie mit *L. reuteri* DSM 17938/ ATCC PTA 5289 mit denen der kombinierten Therapie mit Probiotika und SRP verglichen hatte (*Vivekananda et al. 2010*), untersuchte *Teughels* die adjunkte Gabe dieser probiotischen Stammkombination bei SRP. Im Ergebnis waren Taschenreduktion und Attachmentgewinn in der Gruppe signifikant größer, die ergänzend zu SRP mit *L. reuteri* behandelt worden war (*Teughels et al. 2013*). Weitere Studien kamen in diesem Zusammenhang zu ähnlichen positiven Ergebnissen und konnten diese sogar nach einem Jahr ohne weitere probiotische Therapie bestätigen (*Ince et al. 2015, Tekce et al. 2015*).

Ableitung der vorliegenden Studie

Die beschriebenen Ergebnisse der klinischen Studien mit *L. reuteri*, insbesondere im Zusammenhang mit der überwiegend positiven Beeinflussung parodontaler Erkrankungen, waren Ausgangspunkt für die vorliegende Studie.

Soldaten der Bundeswehr werden auf der Grundlage aktueller, etablierter Prophylaxe- und Therapiestandards in allen Bereichen der Zahnheilkunde im Rahmen der sogenannten unentgeltlichen truppenzahnärztlichen Versorgung

betreut und behandelt, also auch im Zusammenhang mit parodontalen Erkrankungen (BMVg 2009). Oberstes Ziel ist dabei der Erhalt und die Wiederherstellung der Dienst- und Verwendungsfähigkeit im Sinne der geltenden „Dental Fitness Standards“ der *North Atlantic Treaty Organization* (NATO 2014). Der unmittelbare Zusammenhang zwischen Mundgesundheit und einsatzbezogener Verwendungsfähigkeit von Soldaten ist einleitend bereits angesprochen worden.

Einen besonderen Stellenwert in der zahnärztlichen Behandlung von Soldaten hat neben der Parodontaltherapie auch die Prävention. So haben Soldaten ohne Altersbeschränkung und zeitliche Begrenzung Anspruch auf zahnärztlich-individualprophylaktische Maßnahmen und eine sogenannte „Einsatz vorbereitende Prophylaxe“. Der derzeitige Standard reicht aber offensichtlich nicht aus, um der beschriebenen Verschlechterung der Mundgesundheit von Soldaten unter Einsatzbedingungen zu begegnen. In diesem Zusammenhang könnte *L. reuteri* nicht nur, wie bisher untersucht, von therapeutischem Nutzen, sondern als eine praktikable Prophylaxestrategie in der Lage sein, dieser Verschlechterung der Mundgesundheit von Soldaten unter Einsatzbedingungen vorzubeugen.

Auf der Grundlage der vorliegenden Evidenz erschien eine Kombination der Stämme *L. reuteri* DSM 17938 und *L. reuteri* ATCC PTA 5289 besonders vielversprechend. Bei dem Stamm *L. reuteri* DSM 17938 handelt es sich um einen Tochterstamm von *L. reuteri* ATCC 55730, dem zwei Plasmide entfernt wurden, die unerwünschte Antibiotika-Resistenzmerkmale trugen. Nach der Elimination dieser DNA-Moleküle konnte abschließend nachgewiesen werden, dass der daraus resultierende Tochterstamm *L. reuteri* DSM 17938 in Folge dieser Manipulation keine probiotischen Eigenschaften seines Mutterstamms verloren hatte (Rosander et al. 2008). Aufgrund dieser Tatsache kann die früher gewonnene klinische Evidenz für den Stamm *L. reuteri* ATCC 55730 mit der von *L. reuteri* DSM 17938 zusammengehörig bewertet werden.

GUM®PerioBalance®

L. reuteri-haltige Lutschtabletten werden in Deutschland unter dem Markennamen GUM®PerioBalance® durch die Firma Sunstar vertrieben. Diese enthalten *Lactobacillus reuteri* Prodentis®, eine durch die schwedische Firma BioGaia® patentierte Kombination der beiden Stämme *L. reuteri* DSM 17938 und *L. reuteri* ATCC PTA 5289, die ursprünglich aus der oralen humanen Kommensalmikrobiota bzw. menschlicher Muttermilch isoliert wurden. Der Hersteller bewirbt GUM®PerioBalance® im Sunstar GUM® Produktkatalog 12/2016 als „Ein einzigartiges orales Nahrungsergänzungsmittel für das Zahnfleisch - Durch die probiotische Wirkungsweise des *Lactobacillus reuteri* Prodentis® stellt GUM®PerioBalance® das Gleichgewicht der oralen Mikrobiota wieder her und stärkt die natürlichen Abwehrmechanismen des Mundes“. Unter Berufung auf die klinischen Studien von *Krasse et al.* 2006 und *Twetman et al.* 2009 wird im Katalogteil „Zahnfleisch und Zähne“ eine Lutschtablette pro Tag in folgenden Indikationsbereichen empfohlen: „bei Gingivitis; zur Erhaltung der Mundgesundheit; zur Prävention, wenn ein hohes Risiko für die Erkrankung des Zahnfleisches besteht; zur Bekämpfung von Bakterien die für Gingivitis, Karies und Mundgeruch verantwortlich sind“. Darüber hinaus wird der Anwendungsbereich „nach Scaling und Rootplaning während der Erhaltungsphase der Parodontaltherapie“ im Katalogteil „gesundes Zahnfleisch“ mit den Studien von *Vivekananda et al.* 2010 und *Vikario et al.* 2012 beworben. In den ergänzenden Hinweisen nach Lebensmittelinformationsverordnung zu diesem Produkt wird darauf aufmerksam gemacht, dass GUM®PerioBalance® ein Nahrungsergänzungsmittel sei und im Rahmen einer gesunden Lebensweise verwendet werden sollte. GUM®PerioBalance® wäre weder ein Ersatz für eine abwechslungsreiche und ausgewogene Ernährung noch ein Ersatz für die tägliche Mundhygiene.

Die Wirksamkeit von *Lactobacillus reuteri* Prodentis® konnte bereits in mehreren klinischen Studien in den Bereichen Reduktion der kario- und parodontalpathogenen Mikrobiota, Gingivitistherapie und der adjunkten nicht-chirurgischen Parodontaltherapie verifiziert werden (s. 1.2.3 Probiotika – *Lactobacillus reuteri* – Klinische Anwendung).

2 Ziel der Studie

Ziel der vorliegenden Studie war es, in einer prospektiven, randomisierten, doppelt verblindeten, placebokontrollierten klinischen Studie über einen Beobachtungszeitraum von sechs Wochen die Auswirkungen des täglichen Konsums kommerziell verfügbarer, probiotischer, *L. reuteri* enthaltender Lutschtabletten (GUM®PerioBalance®, Fa. Sunstar Butler, D-79677 Schönau) auf Parameter der oralen Gesundheit von Besatzungsmitgliedern einer Fregatte der deutschen Marine während der Einsatzvorbereitung in See zu evaluieren.

Primäre Fragestellung

Verhindert der regelmäßige Konsum *L. reuteri*-haltiger Lutschtabletten über einen Zeitraum von sechs Wochen den Anstieg der Anzahl auf schonende Sondierung des gingivalen Sulkus blutenden Messtellen (BoP) an den zur Messung benutzten Ramfjordzähnen (16, 21, 24, 36, 41, 44) im Vergleich zum Ausgangsbefund und im Vergleich zu einer ein Placebo konsumierenden Vergleichsgruppe?

Sekundäre Fragestellungen

Beugt der regelmäßige Konsum *L. reuteri*-haltiger Lutschtabletten über sechs Wochen hinweg der Verschlechterung der Ausprägung der nachfolgenden Parameter der parodontalen Gesundheit im Vergleich zum Ausgangsbefund und zu einer ein Placebo konsumierenden Kontrollgruppe vor?

1. Ausprägung einer gingivalen Entzündung an den Ramfjordzähnen, erfasst mit Hilfe des Gingival-Index (GI)
2. Bedeckung der evaluierten Ramfjordzähne mit bakteriellen Biofilmen, erfasst mit Hilfe des Plaque Control Records (PCR)
3. Taschensondierungstiefe (Pocket Probing Depth; PPD) der evaluierten Ramfjordzähne
4. Klinisches Attachmentniveau (Clinical Attachment Level; CAL) der evaluierten Ramfjordzähne

Null Hypothese

Als Nullhypothese wurde das Fehlen eines signifikanten Unterschieds zwischen den Daten des Ausgangs- und Endbefunds sowie zwischen den beiden experimentellen Gruppen festgelegt.

3 Material und Methode

3.1 Studiendesign

Diese Untersuchung wurde als randomisierte, doppelt verblindete, placebo-kontrollierte, prospektive klinische Studie im zweiarmligen Parallelgruppendesign durchgeführt. Das Studiendesign wurde in Übereinstimmung mit den Grundsätzen der Deklaration von Helsinki erstellt und entsprach den Anforderungen der Good Clinical Practice. Es wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Julius-Maximilians-Universität Würzburg unter dem Aktenzeichen 81/16-ge mit positivem Votum evaluiert (Anhang 1). Alle Studienteilnehmer hatten nach umfassender Aufklärung über die Ziele der Studie ihre schriftliche Einwilligung vor Einschluss in die Studie gegeben.

Auf der Grundlage der geltenden Vorschriften der Bundeswehr wurde darüber hinaus der Prüfplan gemäß der Fachdienstlichen Anweisung des Inspektors des Sanitätsdienstes der Bundeswehr durch den Leiter des Schiffahrtmedizinischen Instituts der Marine als die diese Studie durchführende Ressortforschungseinrichtung genehmigt und die Studie auf dem Fachdienstweg im Bundesministerium der Verteidigung angezeigt (Anhang 2).

3.2 Organisatorische Rahmenbedingungen

3.2.1 Studienschiff

Zur Durchführung der klinischen Untersuchungen in See wurde die Fregatte *Brandenburg* identifiziert (Abb. 1). Als Fregatte der Klasse 123 war die Fregatte *Brandenburg* infrastrukturell für die Einschiffung eines Studienteams mit dem für die Untersuchungen erforderlichen Gerät und Material geeignet. Im beabsichtigten Studienzeitraum waren annähernd kontinuierliche Seefahrtsvorhaben geplant. Die Einschiffung einer Bordzahnarztgruppe in diesem Zeitraum war nicht beabsichtigt.



Abbildung 1: Studienschiff Fregatte Brandenburg

Zahnärztliche Untersuchung und auch die sich ggf. anschließende zahnärztliche Behandlung an Bord von Fregatten der Deutschen Marine findet grundsätzlich im Behandlungsraum des Schiffslazarets statt, der mit dem zur Besatzung gehörenden Schiffsarzt in der Nutzung geteilt werden muss (Abb. 2). Ein separater zahnärztlicher Behandlungsraum existiert nicht. Als zahnärztlicher Behandlungsstuhl wird der Operationstisch mit entsprechender Beleuchtung genutzt. Als zahnärztliche Behandlungseinheit stellt die Marine ein mobiles zahnärztliches Behandlungsgerät, das Model „Amadeus 1070“ der Firma KaVo Dental GmbH, als sogenannte Bordzahnstation zur Verfügung, das jeweils für den Zeitraum der Einschiffung einer Bordzahnarztgruppe beim Schifffahrtmedizinischen Institut der Marine ausgeliehen wird (Abb. 3). Eine solche Bordzahnstation stand auch für die Durchführung der Studie zur Verfügung.



Abbildung 2: Schiffslazarett mit Bordzahnstation



Abbildung 3: Bordzahnstation in Transportkisten

3.2.2 Studienkollektiv

Die Probanden dieser Studie wurden aus den Besatzungsmitgliedern der Fregatte *Brandenburg* rekrutiert. Diese wurden alle auf der Grundlage der Zentralvorschrift A1-831/0-4002 „Borddienstverwendungsfähigkeit der deutschen Marine“ militärärztlich wie auch militärzahnärztlich begutachtet und hatten sich alle im Sinne dieser Vorschrift als borddienstverwendungsfähig, also als „gesundheitlich tauglich für den Borddienst“, gezeigt. Nach einem strikten „Hausarztprinzip“ mussten alle Besatzungsmitglieder im Bedarfsfall bei gesundheitlichen Problemen zunächst nur einen Arzt aufsuchen, der als Schiffsarzt zur Besatzung gehörte.

Die Rahmenbedingungen der Lebensumstände waren für alle Besatzungsangehörigen an Bord ähnlich. Die Soldaten konnten während einer Seefahrt das Schiff nicht verlassen, wohnten in Gemeinschaftsunterkünften mit zentralen Aufenthaltsräumen, aßen alle die gleichen an Bord zubereiteten Mahlzeiten und arbeiteten unter ähnlichen Bedingungen auf der Plattform Schiff. Individuelle Unterschiede in der Lebensführung waren somit bis auf die Arbeitszeiten minimiert. Ein Teil der Besatzung war im Beobachtungszeitraum als sogenannte „Dauerwächter“ tagsüber mit festen Arbeitszeiten eingesetzt. Im Gegensatz dazu arbeitete die Gruppe der „Seewächter“ im wechselnden 24h-Schichtdienst.

Einschlusskriterien

Zum Einschluss in die Studie mussten die Probanden folgende Kriterien erfüllen:

- Alter des Probanden zwischen 18 und 65 Jahre
- Mindestens 12 natürliche Zähne sind vorhanden
- Evaluation der Ramfjordzähne 16, 21, 24, 36, 41, 44 oder deren Ersatzzähne ist möglich
- Mindestens 1 Ramfjordzahn ist positiv für „Bleeding on Probing“ (BoP)

Ausschlusskriterien:

Die Ausschlusskriterien waren:

- Regelmäßige Einnahme von entzündungshemmenden Arzneimitteln, die die Ausprägung gingivaler Entzündungen beeinflussen
- Regelmäßiger Gebrauch antimikrobieller Mundspülungen, Gele oder ähnlicher Medikamente
- Systemische Erkrankungen, die den Entzündungsstatus der Gingiva in starkem Maße beeinflussen (z. B. nicht eingestellter Diabetes)
- Drogenkonsum/Alkoholmissbrauch

Begleitende Medikation

Alle Probanden, bei denen im Beobachtungszeitraum eine systemische Antibiotikatherapie notwendig wurde, nahmen weiter an der Studie teil und wurden auch entsprechend untersucht. Die Protokollverletzung wurde entsprechend vermerkt, so dass die Ergebnisse nicht in die Auswertung einer „Per-Protokoll-Analyse“ mit einbezogen wurden.

Die für die primäre statistische Analyse in Sinne einer „Intention-to-treat-Analyse“ genutzten Werte sind die aller Probanden unabhängig möglicher Protokollverletzungen.

3.2.3 Screening und Rekrutierung

Zunächst wurde das Studienteam bestehend aus Prüfzahnärztin und Studienassistentin eingeschifft. Beide Soldatinnen verfügten als Zahnärztin und Dentalhygienikerin über langjährige Erfahrung in der wehrmedizinischen zahnärztlichen Begutachtung und waren darüber hinaus mit den Eigentümlichkeiten der Marine hinlänglich vertraut. Dieses Team hat in derselben personellen Konstellation in der Folge alle Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Studie durchgeführt.

Eingangs erfolgte, getrennt nach Dienstgradgruppen (Offiziere, Portepeeunteroffiziere, Unteroffiziere und Mannschaften), eine umfassende und jeweils

adressatengerechte Information der Besatzung zu dem beabsichtigten Studienvorhaben mittels Informationsvorträgen (Anhang 3) und der Möglichkeit zur anschließenden ausführlichen Diskussion.

Der Studie vorgeschaltet wurde nach Absprache mit der Schiffsführung zunächst eine sogenannte zahnärztliche Reihenuntersuchung, die für alle Besatzungsangehörigen im jährlichen Intervall verpflichtend ist und vor längeren Seefahrten und Auslandseinsätzen ohnehin routinemäßig durchgeführt wird, um den Zahnstatus der Besatzung zu erheben und ggf. dringend notwendige zahnärztliche Behandlung noch vor Einsatzbeginn durchführen zu können. In diesem Zusammenhang wird nach einheitlichem *NATO*-Standard, dem „Standardization Agreement 2466“ (STANAG 2466), eine sogenannte „Dental Fitness Class“ (DFC) als Risikoabschätzung der Wahrscheinlichkeit des Auftretens eines zahnärztlichen Notfalls innerhalb der nächsten zwölf Monate erhoben (*NATO* 2014).

Im Rahmen dieser Untersuchung, die u. a. eine zahnärztliche Befundaufnahme und die Erhebung des Parodontalen Screening Index (PSI) umfasst, wurden zeitgleich die Ein- und Ausschlusskriterien jedes einzelnen Soldaten hinsichtlich einer möglichen Studienteilnahme geprüft.

Weiterhin wurde die generelle Bereitschaft, freiwillig als Proband an der Studie teilzunehmen, erfragt und bedarfsgerecht individuell erweitert aufgeklärt. In diesem Zusammenhang haben deutlich mehr grundsätzlich für eine Studienteilnahme geeignete Soldaten ihre Bereitschaft zur freiwilligen Teilnahme erklärt, als Probanden benötigt wurden. Limitierend war hier die zur Verfügung stehende Anzahl an Studienlutschtabletten für insgesamt 72 Studienteilnehmer bei einer zuvor in der Poweranalyse berechneten Mindestprobandenanzahl von 44.

Die Auswahl der Probanden wurde im Folgenden anhand des in der Reihenuntersuchung erhobenen PSI vorgenommen. Beginnend mit dem höchsten PSI-Wert wurden 72 grundsätzlich geeignete Freiwillige absteigend anhand des PSI in die Studie eingeschlossen und nach ihrer dienstlichen Abkömmlichkeit nach Absprache mit ihren jeweiligen Vorgesetzten zur Eingangsuntersuchung im Schiffslazarett terminiert. Allen anderen Freiwilligen wurde für ihre Bereitschaft gedankt.

3.2.4 Untersuchungszeiträume

Im Studienprotokoll waren zunächst zwei Zeiträume vorgesehen, in denen das Studienteam auf Fregatte *Brandenburg* einschiffen sollte. Im Zeitraum vom 16. bis 28. Mai 2016 sollte die Eingangs- und nach sechs Wochen Beobachtungszeitraum vom 01. bis 09. Juli 2016 die Abschlussuntersuchung stattfinden. Nach Abschluss der Eingangsuntersuchung und Ausschiffung des Studienteams traten unerwartet technische Schwierigkeiten auf, die kurzfristig eine ungeplante und zeitlich zunächst nicht absehbar begrenzte Dock-Phase zur Reparatur der Fregatte *Brandenburg* im Marinearsenal Wilhelmshaven notwendig machten. Die möglichen Auswirkungen auf den weiteren Übungs- und Einsatzplan des Schiffes und damit auch auf den weiteren Studienverlauf waren zunächst nicht absehbar. Es stand die Möglichkeit eines längerfristigen Ausfalls der Fregatte im Raum. Demzufolge wurde außerhalb des Protokolls sehr kurzfristig ex tempore eine weitere Untersuchung während der Fahrt von Kirkwall/ Großbritannien ins Marinearsenal Wilhelmshaven im Zeitraum vom 03. bis 08. Juni 2016 bereits nach 14 Tagen Beobachtungszeitraum durchgeführt. Letztendlich konnte die Abschlussuntersuchung aber doch mit geringfügiger Modifikation in Bezug auf den ursprünglichen Zeitplan vom 29. Juni bis 08. Juli 2016 durchgeführt werden. Die erfolgte zusätzliche Untersuchung ging somit als Zwischenuntersuchung in die Studie ein.

3.3 Klinische Untersuchung

Nach individueller Aufklärung gaben die Probanden zunächst ihr informiertes schriftliches Einverständnis für eine Studienteilnahme (Anhang 4 und 5) ab. Anhand des Case Report Form (CRF) wurden in der Folge allgemeine Probandenangaben und Angaben zum Rauchverhalten erfasst. Jeder Proband wurde nach der Stratifikation Raucher/Nichtraucher mittels Zufallsauswahl einer Probanden-Identifikationsnummer (ID) und damit einer Versuchsgruppe zugeordnet. Die Nichtraucher wurden in diesem Zusammenhang fortlaufend absteigend beginnend bei ID 1 und die Raucher aufsteigend beginnend mit ID 72 eingruppiert, so dass eine annähernd gleichmäßige Verteilung von Rauchern und

Nichtrauchern in den Gruppen sichergestellt war. Die Verteilung erfolgte anhand einer an der Universitätsklinik Würzburg erstellten Randomliste. Mithilfe dieser Randomliste wurden im Vorfeld die in neutralen Dosen verpackten Studienlutschtabletten mit *L. reuteri*-haltigen Lutschtabletten oder geschmacksidentischen Placebolutschtabletten durch eine vom Studienteam unabhängige Study-Nurse am Schiffahrtmedizinischen Institut der Marine mit den Probanden-ID ausgezeichnet, um die doppelte Verblindung zu gewährleisten.

Die Untersuchung selbst erfolgte mit einem Set steriler zahnärztlicher Einmalinstrumente der Firma Kerr bestehend aus Sonde/Parodontalsonde, Spiegel, Pinzette und Watterollen auf einem Untersuchungstray (Sterile Oral Examination Kit) ergänzt durch Schaumstoffpellets und Plaquarelevator der Firma Miradent (Abb. 4 und 5).



Abbildung 4: Untersuchungsmaterialvorrat



Abbildung 5: Vorbereitetes Untersuchungstray

Auf die Verwendung von aufzubereitendem Instrumentarium wurde bewusst verzichtet. Ein Ausfall des grundsätzlich im Schiffslazarett vorhandenen Sterilisationsgerätes in See hätte dazu geführt, dass mindestens bis zum nächsten Hafen keine weiteren Untersuchungen hätten stattfinden können. Ein Medizingerätetechniker für ggf. anfallende Wartungen und Reparaturen ist an Bord nicht verfügbar.



Abbildung 6: Studienuntersuchung im Schiffslazarett

Im Rahmen der klinischen Eingangsuntersuchung wurden in nachstehender Sequenz die im Weiteren beschriebenen Parameter bestimmt (siehe 3.3.1 – 3.3.4 Material und Methode - Klinische Untersuchung - Gingival-Index/Bleeding on Probing/Probing Pocket Depth und Clinical Attachmentlevel/Plaque Control Record) und handschriftlich im Dokumentationsschema des CRF eingetragen (Abb. 6 und 7). Die Übertragung dieser Daten in eine zuvor angelegte elektronische Matrix erfolgte zu einem späteren Zeitpunkt.



Abbildung 7: Studienuntersuchung und Dokumentation

Anschließend wurde den Probanden der Studienlutschtabletten-Vorrat für sechs Wochen in drei neutralen, optisch gleichen Dosen und ein Dokumentationsvordruck zur Erfassung des Zuckerkonsums (Zuckerfragebogen) übergeben (Abb. 8). Auf diesem Zuckerfragebogen sollte der über die an Bord unterschiedslos für die gesamte Besatzung zubereiteten Mahlzeiten hinaus konsumierte Zucker eingetragen werden. Weiterhin wurden die Probanden angewiesen, ihre täglichen Mundhygienegewohnheiten beizubehalten. Einzige Einschränkung war der Verzicht auf Mundspüllösungen. Es wurde angeordnet, täglich zweimal eine Studienlutschpastille langsam im Mund zergehen zu lassen. Eine professionelle Mundhygieneeinweisung oder Zahnreinigung erfolgte nicht. Abschließend wurden die Probanden noch einmal auf die Möglichkeit hingewiesen, sich jederzeit auch nach Ausschiffung des Studienteams mit möglichen Fragen oder Sorgen im Zusammenhang mit der Studie an das Schiffslazarett wenden zu können.

Nachfolgend dokumentierte der Schiffsarzt im Beobachtungszeitraum jede Vorstellung eines Studienprobanden als Patient in seiner ärztlichen Sprechstunde im Schiffslazarett auf speziell dafür vorgesehenen Bögen. Systematisch erfasst wurden in diesem Zusammenhang der Grund der ärztlichen Vorstellung, die Diagnose, die verordnete Medikation und die Dauer der ärztlicherseits empfohlenen Arbeitsunfähigkeit.



Abbildung 8: Lutschtabletten und Zuckerfragebogen

Bei allen weiteren Untersuchungen wurden die identischen Parameter wie bei der hier dargestellten Eingangsuntersuchung erfasst. Ergänzend wurde dann nur jeweils zu Beginn nach unerwünschten Ereignissen im zurückliegenden Zeitraum gefragt, der ausgefüllte Zuckerfragebogen eingeholt, die Anzahl der verbleibenden Lutschtabletten gezählt und die vom Schiffsarzt dokumentierten ärztlichen Vorstellungen des Probanden vermerkt.

3.3.1 Gingival-Index

Der Gingival-Index (GI) wird genutzt, um grob gerastert den Entzündungsgrad der Gingiva zu beurteilen. In der hier angewandten Modifikation des GI nach *Lobene* wird der Grad der Entzündung der Gingiva rein visuell anhand der Farb- und Oberflächenveränderung sowie der Schwellung ohne vorherige mechanische Reizung der Gingiva mittels einer Parodontalsonde an folgenden Flächen der Ramfjordzähne erhoben: 16 bukkal, 21 oral, 24 oral, 36 oral, 41 bukkal und 44 bukkal. Erfasst wurde das Ausmaß der Entzündung der Gingiva in vier Graden in der folgenden Skalierung:

Grad 0: normale Gingiva, keine Entzündung, keine Verfärbung

Grad 1: geringe Entzündung, leichte Farbveränderung,
geringe Oberflächenveränderung (würde bei Sondierung nicht bluten)

Grad 2: mäßige Entzündung, Rötung, Schwellung
(würde bei Sondierung bluten)

Grad 3: starke Entzündung, starke Rötung und Schwellung,
Tendenz zu Spontanblutung, eventuell Ulzeration

3.3.2 Bleeding on Probing

Der Index Bleeding on Probing (BoP) ist ein Maß für die Sondierungsblutung. Er erfasst die Blutung der Gingiva als ein Symptom ihrer Entzündung. Es wurde an den Ramfjordzähnen ohne Graduierung an sechs Zahnflächen (mesiobukkal, bukkal, distobukkal, mesiooral, oral, distooral) erfasst, ob Blutung bei Sondierung vorhanden war oder nicht. Hierfür wurde eine stumpfe Parodontalsonde mit einem Arbeitsdruck von 0,2-0,5 N in den gingivalen Sulkus eingeführt und um

den Zahn herumgeführt. Zeigte eine Messstelle innerhalb von 30 Sekunden nach Sondierung eine klinisch sichtbare Blutung, wurde dies als BoP positiv bewertet (Abb. 9). Dokumentiert wurde wie folgt:

0 = negativ (keine Blutung)

1 = positiv (Blutung)



Abbildung 9: Erfassen des BoP



Abbildung 10: Erfassen des PPD und CAL

3.3.3 Probing Pocket Depth und Clinical Attachment Level

Probing Pocket Depth (PPD), also die Sondierungstiefe, und Clinical Attachment Level (CAL), also der klinische Attachmentlevel, geben einen Anhalt über den klinischen Schweregrad einer Gingivitis bzw. Parodontitis. Der PPD wurde zeitgleich mit dem BoP ebenfalls an den o. a. sechs Zahnflächen der Ramfjordzähne bestimmt. Es wurde die Eindringtiefe der Parodontalsonde unterhalb des marginalen Sulkus in Millimetern gemessen und entsprechend dokumentiert (Abb. 10).

Im Rahmen der Erhebung des PPD wurde darüber hinaus der CAL gleichermaßen an den o. a. sechs Zahnflächen der Ramfjordzähne als der Wert von der Schmelz-Zement-Grenze bis zum Sondenstopp in mm erhoben.

3.3.4 Plaque Control Record

Zur Aufnahme des Plaque Control Record (PCR) nach O'Leary (O'Leary et al. 1972) wurden zunächst die Ramfjordzähne mittels Plaquerelevator angefärbt (Abb. 11 und 12) und die Probanden gebeten, so lange auszuspülen, bis das Spülwasser wieder klar ist. Die Anwesenheit von Plaque am Gingivarand wurde visuell beurteilt (Abb. 13) und an vier Zahnflächen (mesiobukkal, distobukkal, mesiooral, distooral) nachfolgender dichotomer Skala erfasst:

0 = keine Plaque

1 = Plaque

Nach Dokumentation des PCR wurden die Probanden gebeten, sich mittels einer Einmalzahnbürste selbst den Plaquerelevator wieder von den Zähnen zu entfernen.



Abbildung 11: Erheben des PCR



Abbildung 12: Anfärben der Plaque



Abbildung 13: Erfassen des PCR

3.4 Studienlutschtabletten

Die den Probanden übergebenen drei Dosen mit Studienlutschtabletten enthielten je 28 BioGaia®Prodentis-Lutschtabletten (Verumlutschtabletten) bzw. BioGaia-Placebolutschtabletten. Jede Lutschtablette wog ca. 800 mg und bestand aus Isomalt (Füllstoff), hydriertem Palmöl, Pfefferminzaroma, Mentholaroma, Pfefferminzöl und Sucralose.

Bei den BioGaia®Prodentis-Lutschtabletten, die in Deutschland durch die Firma Sunstar unter dem Namen Periobalance® vertrieben werden, handelt es sich um eine klinisch getestete und patentierte Kombination von zwei sich ergänzenden *Lactobacillus-reuteri*-Stämmen (*L. reuteri* DMS 17938 und *L. reuteri* ATCC PTA 5289). Jede der Verumlutschtablette enthielt mindestens 5×10^8 Colony Forming Units der beiden o. a. *L. reuteri*-Stämme. Die in Form, Farbe, Gewicht und Geschmack identischen Placebolutschtabletten enthielten weniger als 2000 Colony Forming Units *L. reuteri*. Der Herstellernachweis ist im Anhang beigefügt (Anhang 6).

Nebenwirkungen

Es wurden keine unerwünschten Begleiterscheinungen oder Nebenwirkungen während der Einnahme der Tabletten seitens der Probanden berichtet oder durch das Studienteam festgestellt.

3.5 Datenauswertung und Statistik

Berechnung der Gruppengröße

Die notwendige Anzahl an Probanden für die vorliegende Studie wurde wie folgt berechnet: Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgesetzt. Bei einer angestrebten Teststärke von 0,9 und unter der Annahme, dass sich die Anzahl der positiven BoP-Messwerte vom Ausgangswert der Eingangs- zu dem der Abschlussuntersuchung um 50% reduzieren würde und um einen Unterschied von $\geq 40\%$ zwischen der Test- und der Placebogruppe feststellen zu können, ergab sich in der Poweranalyse eine Mindestprobandenzahl von 22 Probanden für jede Gruppe.

Datenauswertung

Das Institut für Klinische Epidemiologie und Biometrie der Universität Würzburg hat ohne vorherige Kenntnis der Gruppenzugehörigkeit ein statistisches Analyseprotokoll (SAP) für die vorliegende Studie erstellt, das nach Entblindung der Gruppenzugehörigkeit nicht mehr geändert wurde (Anhang 7). Die statistischen Analysen wurden anhand dieses SAP ebenfalls durch das Institut für Klinische Epidemiologie und Biometrie der Universität Würzburg unter Verwendung des Statistikprogramms „IBM SPSS Statistics 24“ (Version 24, 15. März 2016) durchgeführt. Die graphische Aufbereitung erfolgte im Schifffahrtmedizinischen Institut der Marine mittels des Statistikprogramms „Prism 6 for Mac OS X“ (Version 6.0h, October 16, 2015).

Die statistischen Analysen folgten grundsätzlich, wenn im Folgenden nicht anders spezifiziert, dem Prinzip „Intention-to-treat“. Es wurden demnach die Daten aller untersuchten Probanden unabhängig eventueller Protokollverletzungen ausgewertet.

Die Primäranalyse umfasste die Daten der Probanden, bei denen alle drei Untersuchungen gemäß Protokoll durchgeführt wurden. In die Last-Observation-Carried-Forward-Analyse (LOCF-Analyse) wurden auch die Probanden mit einbezogen, bei denen keine Abschlussuntersuchung erfolgt war. Es wurden die letzten jeweils vorliegenden Daten weitergeschrieben und für die Endauswertung verwendet.

Der Unterschied zwischen beiden Gruppen wurde durch Analyse der Kovarianz (ANCOVA) und Anpassung der Differenz zwischen der Verum- und der Placebogruppe bei der Zwischen- bzw. Abschlussuntersuchung bezogen auf die Daten der Eingangsuntersuchung bewertet. Die P-Werte beziehen sich auf die Null-Hypothese, die von keiner Veränderung innerhalb der Gruppen oder von keinem Unterschied in Änderungen zwischen den Gruppen ausgeht.

Darstellung der analysierten Daten

Die deskriptiven Daten wurden mittels Mittelwert und Standardabweichung dargestellt. Kategoriale Daten wurden nachfolgend mit absoluten Häufigkeiten und relativen Anteilen in Klammern beschrieben. Rundungen einzelner Zwischenergebnisse führten dazu, dass dargestellte Ergebnisse gleicher Kategorien unterschiedlicher Gruppen addiert ggf. nicht exakt 100% ergeben.

4 Ergebnisse

4.1 Probanden

Anzahl und Gruppenverteilung

Zu Beginn wurden 72 freiwillige Besatzungsangehörige der Fregatte *Brandenburg* in die hier vorliegende Studie eingeschlossen. Aufbau und Ablauf ist der nachfolgenden Abbildung 14 zu entnehmen.

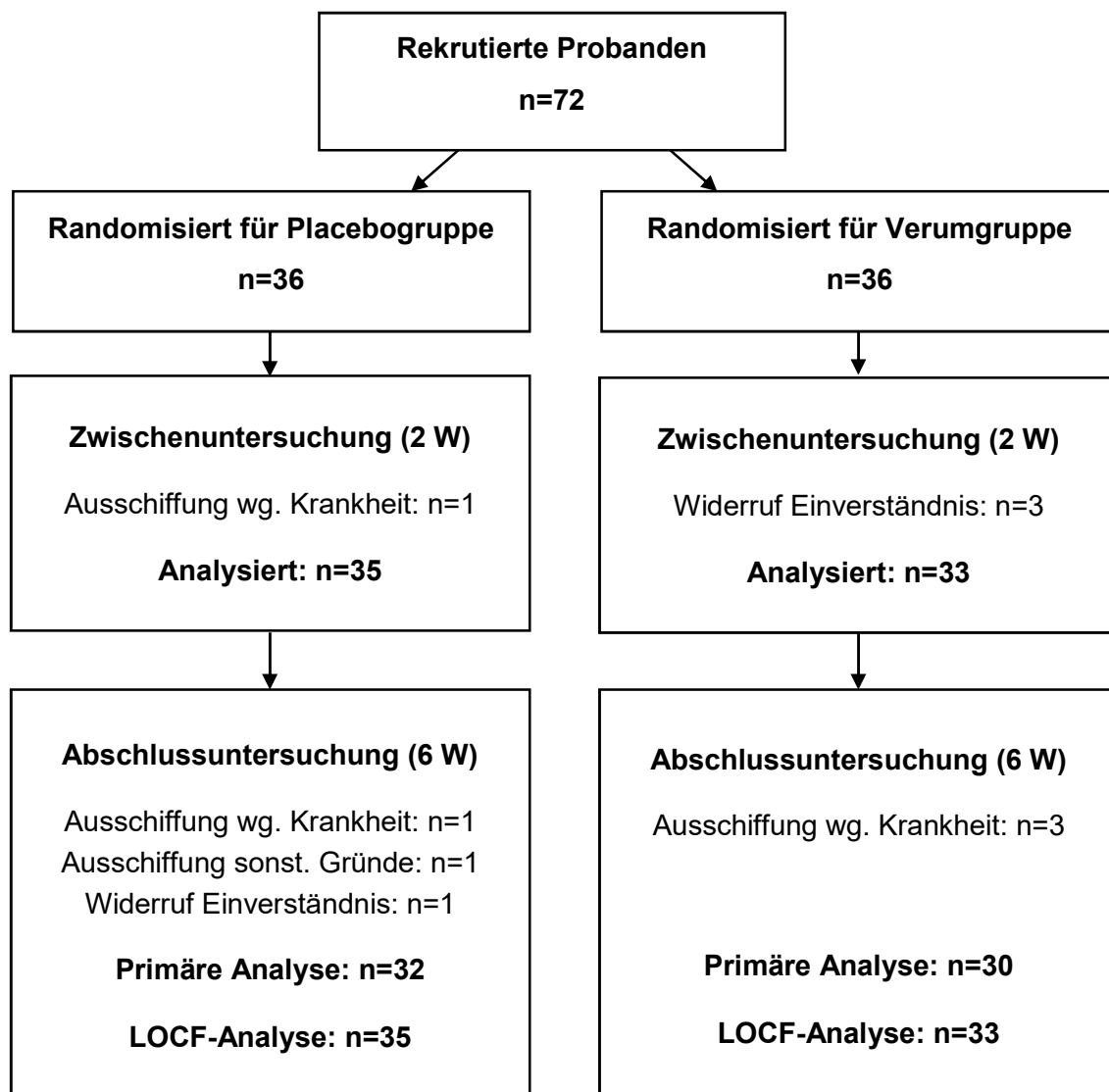


Abbildung 14: Studienablaufplan

(n: Anzahl der Probanden, W: Wochen, LOCF: Last-Observation-Carried-Forward)

Von den 72 zu Beginn rekrutierten Probanden durchliefen 68 nach zwei Wochen die Zwischenuntersuchung. 62 Studienteilnehmer beendeten im weiteren Verlauf nach sechs Wochen die Studie wie vorgesehen mit der Abschlussuntersuchung. Die Verteilung der Gruppenzugehörigkeit nach Placebo- und Verumgruppe sowie die Anzahl der jeweils bei Eingangs-, Zwischen- und Abschlussuntersuchung untersuchten Probanden sind in Abbildung 14 als Studienablaufplan dargestellt. Darüber hinaus sind dieser Abbildung auch Anzahl, Zeitpunkt und Grund der Studienaussteiger zu entnehmen. Keine der dort aufgeführten krankheitsbedingten Ausschiffungen von Studienteilnehmern konnte mit der Einnahme der Studienlutschtabletten in Verbindung gebracht werden.

Bei insgesamt sechs der 62 Probanden, bei denen alle drei Studienuntersuchungen durchgeführt worden sind, kam es zu Protokollverletzungen. Drei dieser Probanden (davon zwei Placebo- und einer Verumgruppe) gaben an, die Studienlutschtabletten in den letzten drei Wochen des Studienzeitraums nicht mehr eingenommen zu haben. Ein weiterer Proband hatte zwischen Eingangs- und Zwischenuntersuchung für insgesamt vier Tage keine Studientabletten gelutscht. Darüber hinaus wurde zwei Probanden aus der Placebogruppe im Beobachtungszeitraum ein Antibiotikum verordnet.

Probandencharakteristika

Die nachstehende Tabelle 1 gibt einen Überblick über die im Rahmen der Eingangsuntersuchung erfassten Basisdaten der Probanden.

Tabelle 1: Probandencharakteristika

Charakteristika der Probanden, die alle drei Untersuchungen abgeschlossen haben (n: Anzahl der Probanden, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, Abweichungen von 100% sind Rundungen von Zwischenergebnissen geschuldet)

| Variable | Alle Probanden n=62 | Placebo- gruppe n=32 | Verum- gruppe n=30 |
|--|------------------------|----------------------------|--------------------------|
| Alter [Jahre] – MW (SD) | 27.0 (5.0) | 26.6 (4.3) | 27.5 (5.8) |
| Geschlecht weiblich – n (%) | 2 (3) | 2 (6) | 0 (0) |
| Body Mass Index [kg/m ²] – MW (SD) | 25.7 (2.6) | 26.0 (2.7) | 25.5 (2.6) |
| Raucher – n (%) | | | |
| Nein | 14 (23) | 7 (22) | 7 (23) |
| Ja, ≤5 pack-years | 18 (29) | 9 (28) | 9 (30) |
| Ja, >5 pack-years | 30 (48) | 16 (50) | 14 (47) |
| Bildungsstand – n (%) | | | |
| Hauptschule | 7 (11) | 4 (13) | 3 (10) |
| Realschule | 41 (67) | 21 (68) | 20 (67) |
| Abitur | 13 (21) | 6 (19) | 7 (23) |
| Dienstgrad – n (%) | | | |
| Mannschaftsdienstgrad | 21 (34) | 11 (34) | 10 (33) |
| Unteroffizier ohne Portepee | 20 (32) | 9 (28) | 11 (37) |
| Unteroffizier mit Portepee | 18 (29) | 11 (34) | 7 (23) |
| Offizier | 3 (5) | 1 (3) | 2 (7) |
| Dauer der Studienteilnahme [Tage] – MW (SD) | | | |
| Eingangs- bis Zwischenuntersuchung | 13.4 (0.7) | 13.4 (0.7) | 13.4 (0.7) |
| Eingangs- bis Abschlussuntersuchung | 41.2 (1.4) | 41.2 (1.6) | 41.3 (1.2) |
| Anzahl gelutschter Studentabletten – MW (SD) | | | |
| Eingangs- bis Zwischenuntersuchung | 23.5 (4.1) | 23.4 (4) | 23.6 (4.4) |
| Eingangs- bis Abschlussuntersuchung | 68.5 (14.2) | 67.1 (15.1) | 70.0 (13.3) |

| | | | |
|------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| pro Tag der Studienteilnahme | 1.66 (0.35) | 1.63 (0.38) | 1.70 (0.32) |
|------------------------------|-------------|-------------|-------------|

Die in Tabelle 1 dargestellten Auswertungen beziehen sich auf die in die Primäranalyse eingeschlossenen Probanden, die die Studie mit der Abschlussuntersuchung abgeschlossen haben. Die erweiterte Analyse nach dem Prinzip „Last-Observation-Carried-Forward“ (LOCF) zeigt analoge Ergebnisse und befindet sich im Anhang dieser Arbeit (Anhang 8).

An der vorliegenden Studie haben demnach überwiegend Männer teilgenommen. Der Altersdurchschnitt lag bei 27 +/-5 (SD) Jahren. Gut zwei Drittel der Probanden waren Raucher und mit einem mittleren BMI von über 25 hatten die Probanden die Grenze zum Übergewicht im Durchschnitt bereits überschritten. Es konnten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der dokumentierten variablen Probandencharakteristika zwischen der Placebo- und der Verumgruppe festgestellt werden. Auch die Studiendauer und die insgesamt konsumierte Anzahl an Studentabletten zeigten keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Gruppen.

4.2 Bleeding on Probing

Nachfolgend sind die Ergebnisse der Datenanalyse der klinisch erfassten Bleeding on Probing-Messwerte (BoP) als dem primären Endpunkt der Studie dargestellt.

Tabelle 2: BoP – Unterschiede Eingangs-/Zwischenuntersuchung

Durchschnittliche Anzahl der BoP-Messwerte in % zum Zeitpunkt von Eingangs- und Zwischenuntersuchung sowie Unterschiede innerhalb und zwischen Placebo- und Verumgruppe

(n: Anzahl der Probanden, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, P: Irrtumswahrscheinlichkeit, ANCOVA: Kovarianzanalyse, CI: Konfidenzintervall, Abweichungen von 100% sind Rundungen von Zwischenergebnissen geschuldet)

| % Taschen Bleeding on Probing | Placebogrp n=35 | Verumgrp n=33 | Unterschied (ANCOVA) |
|--|----------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Eingangsunters. – MW (SD) | 37 (20) | 41 (22) | |
| Zwischenunters. – MW (SD) | 34 (17) | 14 (13) | |
| Unterschied – MW (95% CI) | -4 (-7...+0) | -27 (-33...-22) | -22 (-27...-17) |
| Unterschied zwischen den Grp – P-Wert | | | <0.001 |
| Unterschied innerhalb der Grp – P-Wert | 0.08 | <0.001 | |

Tabelle 3: BoP – Unterschiede Eingangs-/Abschlussuntersuchung

Durchschnittliche Anzahl der BoP-Messwerte in % zum Zeitpunkt von Eingangs- und Abschlussuntersuchung sowie Unterschiede innerhalb und zwischen Placebo- und Verumgruppe

(n: Anzahl der Probanden, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, P: Irrtumswahrscheinlichkeit, ANCOVA: Kovarianzanalyse, CI: Konfidenzintervall, Abweichungen von 100% sind Rundungen von Zwischenergebnissen geschuldet)

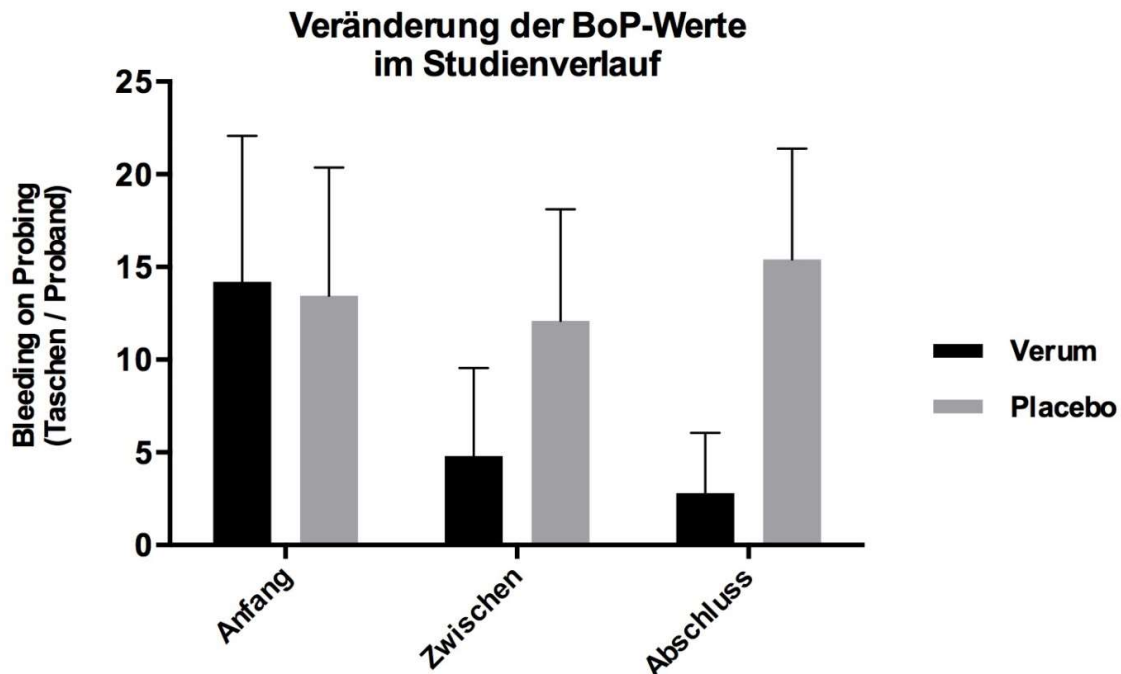
| % Taschen Bleeding on Probing | Placebogrp n=32 | Verumgrp n=30 | Unterschied (ANCOVA) |
|--|----------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Eingangsunters. – MW (SD) | 37 (19) | 40 (22) | |
| Abschlussunters. – MW (SD) | 43 (17) | 10 (13) | |
| Unterschied – MW (95% CI) | +5 (+0...+11) | -30 (-37...-24) | -34 (-41...-28) |
| Unterschied zwischen den Grp – P-Wert | | | <0.001 |
| Unterschied innerhalb der Grp – P-Wert | 0.05 | <0.001 | |

In den beiden Tabellen 2 und 3 sind die Veränderungen innerhalb der Placebo- bzw. der Verumgruppe sowie die Unterschiede zwischen beiden Gruppen von der Eingangs- bis zur Zwischenuntersuchung bzw. von der Eingangs- bis zur Abschlussuntersuchung aufgeführt.

Dargestellt sind hier die Ergebnisse der Primäranalyse. Die LOCF-Analyse kommt zu gleichartigen Ergebnissen und befindet sich im Anhang dieser Arbeit (Anhang 8). Die Mittelwerte und Prozentangaben beziehen sich auf den Durchschnitt der jeweils gemessenen sechs Taschen an den sechs Ramfjordzähnen jedes Probanden. Es liegen also insgesamt 36 Messwerte je Proband und Untersuchung zu Grunde.

Tabelle 2 und 3 ist zu entnehmen, dass sich in der Placebogruppe nach zwei Wochen im Rahmen der Zwischenuntersuchung eine leichte, allerdings nicht signifikante Verringerung der blutenden Taschen zeigte, während nach sechs Wochen eine signifikante Zunahme der Sondierungsblutung im Vergleich zum Ausgangswert in der Placebogruppe festgestellt werden konnte. In der Verumgruppe reduzierten sich die BoP-Werte nach zwei Wochen signifikant. Im Rahmen der Abschlussuntersuchung nach sechs Wochen konnte ebenfalls eine signifikante Abnahme im Vergleich mit den eingangs erhobenen Werten beobachtet werden. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen in Bezug auf den Parameter „Bleeding on Probing“ war zum Zeitpunkt der Zwischenuntersuchung signifikant zu Gunsten einer Abnahme der klinischen Blutung auf Sondierung in der Verumgruppe. Im Rahmen der Abschlussuntersuchung vergrößerte sich dieser Unterschied noch einmal.

Die Gruppenunterschiede im zeitlichen Studienverlauf sind in der folgenden Abbildung 15 visualisiert.



*Abbildung 15: BoP – Entwicklung im zeitlichen Studienverlauf
Absolute Häufigkeit der mittleren BoP-Werte getrennt nach Verum- und Placebogruppe
im zeitlichen Verlauf der Studienuntersuchungen*

In Abbildung 15 ist die Entwicklung der BoP-Werte, getrennt nach Placebo- bzw. Verumgruppe, im Verlauf auf der Zeitachse der drei Studienuntersuchungen graphisch aufbereitet. Die Ausdehnung der dargestellten Standardabweichung ist den intraindividuellen Unterschiede der Probanden geschuldet.

Aus dieser Abbildung ist die signifikante Reduzierung der BoP-Werte in der Verumgruppe innerhalb des sechswöchigen Studienintervalls zu entnehmen. Bei den Probanden dieser Gruppe verringerten sich bei Sondierung blutende Taschen von im Mittel 14 im Rahmen der Eingangs- über fünf bei der Zwischen- bis auf vier zum Zeitpunkt der Abschlussuntersuchung. Das entspricht einer relativen Abnahme von zunächst 66% nach zwei Wochen auf insgesamt 71% in der Verumgruppe am Ende des Studienzeitraums im Vergleich zu den während der Eingangsuntersuchung gemessenen Werten. Im Vergleich zwischen den

beiden Gruppen bluteten bei Sondierung bei den Probanden der Verumgruppe bereits nach zwei Wochen 59% weniger Taschen als in der Placebogruppe. Vor dem Hintergrund des beobachteten Anstiegs der mittleren BoP-Werte der Placebogruppe im zweiten Studienabschnitt konnte im Ergebnis nach sechs Wochen festgestellt werden, dass in der Verumgruppe im Mittel insgesamt 85% weniger Taschen bei Sondierung bluteten als in der Placebogruppe.

In Tabelle 4 ist die Anzahl der Probanden, getrennt nach Placebo- und Verumgruppe, dargestellt, die eine Zunahme, eine Abnahme oder aber keine Veränderung der BoP-Mittelwerte im gesamten Studienzeitraum zeigten.

Tabelle 4: BoP – Veränderungen je Proband

*Anzahl der Probanden entsprechend der Zu- bzw. Abnahme bei Sondierung blutender Taschen innerhalb der Placebo- bzw. Verumgruppe zum Zeitpunkt der Abschluss- im Vergleich zur Eingangsuntersuchung
(n: Anzahl der Probanden)*

| Veränderung BoP-Mittelwert im Studienzeitraum | Anzahl Probanden aus der Placebogrp n=32 | Anzahl Probanden aus der Verumgrp n=30 |
|--|---|---|
| Zunahme >6 | 4 | - |
| Zunahme ≤6 | 9 | 1 |
| Zunahme ≤3 | 6 | - |
| keine Veränderung | 3 | - |
| Abnahme ≤3 (davon Abnahme auf BoP=0) | 7 | 3 (2) |
| Abnahme ≤6 (davon Abnahme auf BoP=0) | 1 | 5 (3) |
| Abnahme >6 (davon Abnahme auf BoP=0) | 2 | 21 (5) |

Lediglich ein Proband der Verumgruppe wies keine Verbesserungen des BoP auf. Bei allen anderen Probanden der Verumgruppe konnte eine Abnahme der Sondierungsblutung festgestellt werden; bei 70% (n=21) der Probanden dieser Gruppe reduzierte sich der mittlere BoP-Wert um mehr als sechs sondierte Taschen. Bei einem Drittel der Probanden der Verumgruppe konnte abschließend gar keine Blutung auf Sondierung mehr festgestellt werden. Im Gegensatz dazu wurde in der Placebogruppe eine breit gefächerte Veränderung des durchschnittlichen BoP-Wertes von einer Abnahme bis hin zu einer Zunahme der

Blutung bei Sondierung beobachtet. Die Abnahme auf einen mittleren BoP Grad 0 konnte in dieser Gruppe nicht beobachtet werden.

Betrachtung des Merkmals Raucher/Nichtraucher

Die Ergebnisse der Datenanalyse der klinisch erfassten BoP-Messwerte, getrennt anhand des Probandenmerkmals Raucher bzw. Nichtraucher in den jeweiligen experimentellen Gruppen, sind in den Abbildungen 16 a-d dargestellt.

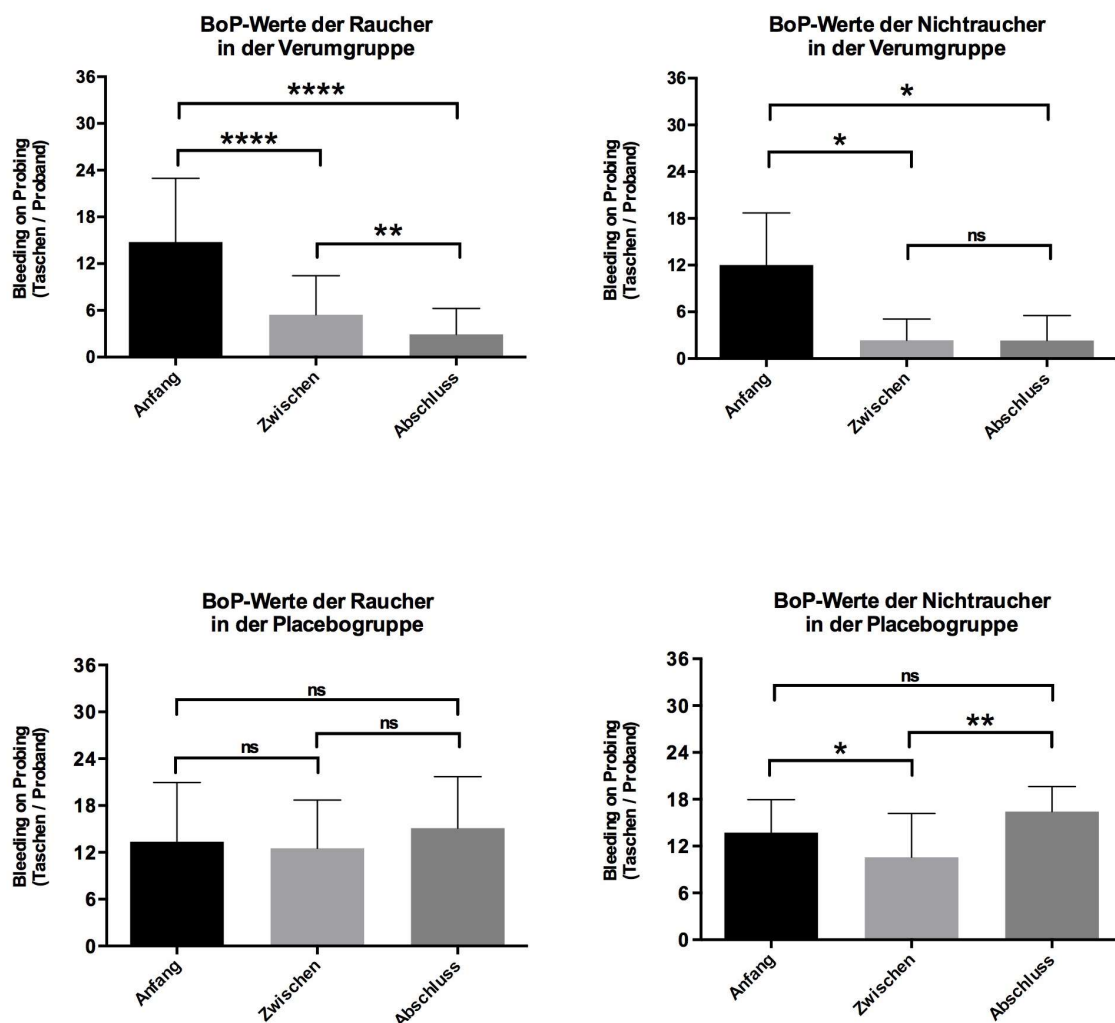


Abbildung 16 a-d: BoP – Veränderungen Raucher/Nichtraucher

Absolute Häufigkeit der mittleren BoP-Werte bei Rauchern bzw. Nichtrauchern jeweils in der Placebo- sowie Verumgruppe im zeitlichen Verlauf der Studienuntersuchungen (Darstellung der Ausprägung des Signifikanzniveaus mittels Sternchen:

* $\triangleq P \leq 0,05$ / ** $\triangleq P \leq 0,01$ / *** $\triangleq P \leq 0,001$ / ns \triangleq nicht signifikant)

In der Placebogruppe konnte bei den Rauchern in Bezug auf Sondierungsbluten keine signifikante Veränderung im Studienverlauf festgestellt werden. Auch bei den Nichtrauchern der gleichen Gruppe kam es zu keiner signifikanten Veränderung im Vergleich von Eingangs- zur Abschlussuntersuchung. Es reduzierten sich aber im Verlauf zunächst bis zur Zwischenuntersuchung die BoP-Werte signifikant, um dann von Zwischen- zu Abschlussuntersuchung wieder signifikant anzusteigen.

In der Verumgruppe konnte ein signifikanter Rückgang bei den Rauchern sowohl von Eingangs- zu Zwischenuntersuchung als auch von Zwischen- zu Abschlussuntersuchung festgestellt werden. Im Gegensatz dazu fiel der mittlere BoP-Wert bei den Verum-Nichtrauchern bereits nach 14 Tagen auf das Niveau, das die Raucher erst nach sechs Wochen erreicht haben. Bis zur Abschlussuntersuchung konnte dann keine weitere signifikante Veränderung mehr beobachtet werden.

Betrachtung weiterer Merkmale

Die Analyse der klinisch erfassten BoP-Werte hinsichtlich der Merkmale Ernährung (Body-Mass-Index sowie Zuckerkonsum), Schichtdienst (Dauerwächter/ Seewächter) und sozialer Status (Schulbildung) ergab keine bemerkenswerten Unterschiede innerhalb und zwischen den jeweils nach diesen Merkmalen klassifizierten Placebo- oder Verumgruppen im Vergleich zur Analyse der zuvor betrachteten Gruppen ohne weitere Unterteilung.

4.3 Probing Pocket Depth und Clinical Attachment Level

Nachfolgend sind die Ergebnisse der Datenanalyse der klinisch gemessenen sondierbaren Taschentiefen, dokumentiert mittels Probing Pocket Depth (PPD) und des klinischen Attachmentlevels (CAL), dargestellt.

*Tabelle 5: PPD und CAL – Unterschiede Eingangs-/Zwischenuntersuchung
Durchschnittliche Sondierungstiefe und durchschnittlicher Klinischer Attachmentlevel zum Zeitpunkt der Eingangs- und Zwischenuntersuchung sowie Unterschiede innerhalb und zwischen Placebo- und Verumgruppe
(n: Anzahl der Probanden, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, P: Irrtumswahrscheinlichkeit, ANCOVA: Kovarianzanalyse, CI: Konfidenzintervall, Abweichungen von 100% sind Rundungen von Zwischenergebnissen geschuldet)*

| Variable | Placebogrp n=35 | Verumgrp n=33 | Unterschied (ANCOVA) |
|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Probing Pocket Depth MW [mm] | | | |
| Eingangsunters. – MW (SD) | 1.7 (0.4) | 1.7 (0.6) | |
| Zwischenunters. – MW (SD) | 1.7 (0.5) | 1.6 (0.4) | |
| Unterschied – MW (95% CI) | +0.0 (-0.1...+0.1) | -0.2 (-0.3...-0.1) | -0.2 (-0.3...-0.1) |
| Unterschied zwischen Grp – P-Wert | | | <0.001 |
| Unterschied innerhalb Grp – P-Wert | 0.92 | <0.001 | |
| Klin. Attachmentlevel MW [mm] | | | |
| Eingangsunters. – MW (SD) | 1.8 (0.5) | 1.8 (0.6) | |
| Zwischenunters. – MW (SD) | 1.8 (0.5) | 1.7 (0.4) | |
| Unterschied – MW (95% CI) | +0.1 (-0.0...+0.1) | -0.3 (-0.2...-0.1) | -0.2 (-0.3...-0.1) |
| Unterschied zwischen Grp – P-Wert | | | <0.001 |
| Unterschied innerhalb Grp – P-Wert | 0.23 | <0.001 | |

Tabelle 6: PPD und CAL – Unterschiede Eingangs-/Abschlussuntersuchung

Durchschnittliche Sondierungstiefe und durchschnittlicher Klinischer Attachmentlevel zum Zeitpunkt der Eingangs- und Abschlussuntersuchung sowie Unterschiede innerhalb und zwischen Placebo- und Verumgruppe

(n: Anzahl der Probanden, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, P: Irrtumswahrscheinlichkeit, ANCOVA: Kovarianzanalyse, CI: Konfidenzintervall, Abweichungen von 100% sind Rundungen von Zwischenergebnissen geschuldet)

| Variable | Placebogrp n=32 | Verumgrp n=30 | Unterschied (ANCOVA) |
|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Probing Pocket Depth MW [mm] | | | |
| Eingangsunters. – MW (SD) | 1.7 (0.4) | 1.7 (0.6) | |
| Abschlussunters. – MW (SD) | 2.0 (0.5) | 1.5 (0.4) | |
| Unterschied – MW (95% CI) | +0.3 (+0.2...+0.4) | -0.3 (-0.4...-0.1) | -0.5 (-0.7...-0.4) |
| Unterschied zwischen Grp – P-Wert | | | <0.001 |
| Unterschied innerhalb Grp – P-Wert | <0.001 | <0.001 | |
| Klin. Attachmentlevel MW [mm] | | | |
| Eingangsunters. – MW (SD) | 1.8 (0.5) | 1.8 (0.6) | |
| Abschlussunters. – MW (SD) | 2.1 (0.5) | 1.6 (0.4) | |
| Unterschied – MW (95% CI) | +0.3 (+0.2...+0.4) | -0.3 (-0.4...-0.1) | -0.6 (-0.7...-0.4) |
| Unterschied zwischen Grp – P-Wert | | | <0.001 |
| Unterschied innerhalb Grp – P-Wert | <0.001 | <0.001 | |

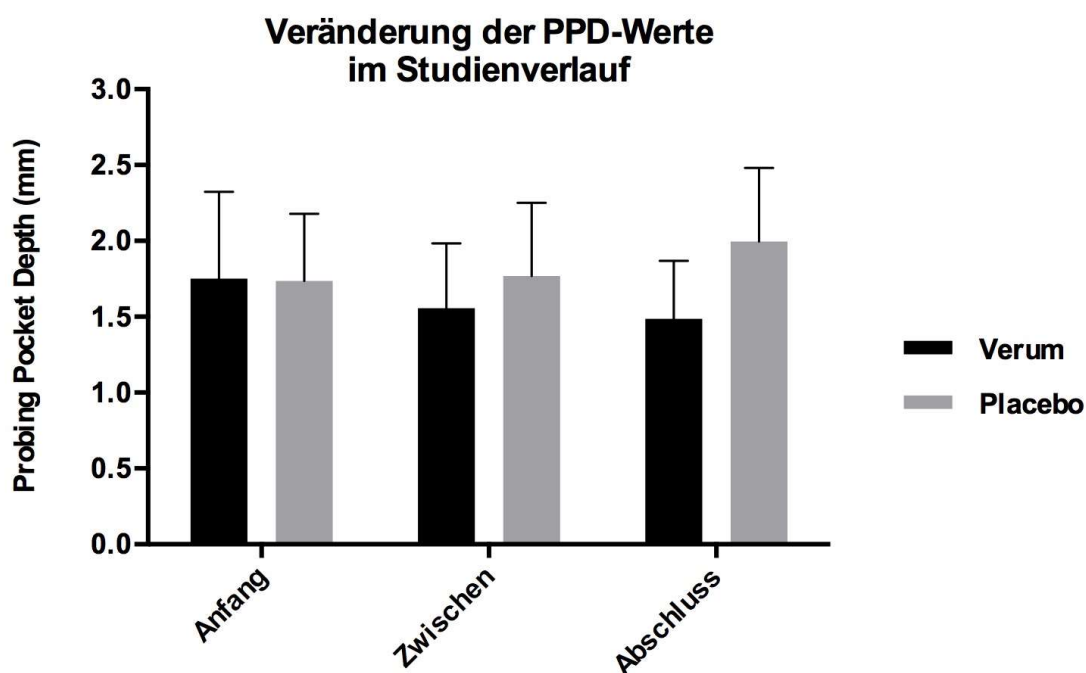
In den beiden Tabellen 5 und 6 sind die Veränderungen innerhalb der Placebo- bzw. der Verumgruppe sowie die Unterschiede zwischen beiden Gruppen von der Eingangs- bis zur Zwischenuntersuchung bzw. von der Eingangs- bis zur Abschlussuntersuchung aufgeführt.

Dargestellt sind hier die Ergebnisse der Primäranalyse. Die LOCF-Analyse kommt zu gleichartigen Ergebnissen und ist dem Anhang zu entnehmen (Anhang 8). Die Mittelwerte beziehen sich auf den Durchschnitt der jeweils gemessenen sechs Taschen an den sechs Ramfjordzähnen jedes Probanden. Es liegen also insgesamt 36 Messwerte jeweils für PPD und CAL je Proband und Untersuchung zu Grunde.

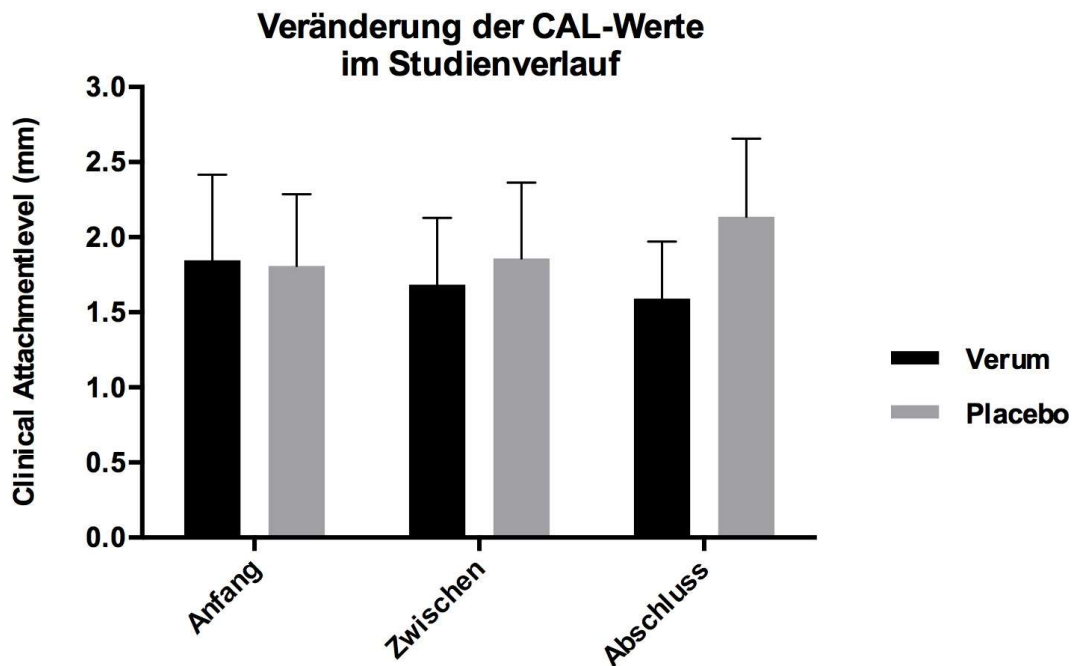
Tabelle 5 zeigt zum Zeitpunkt der Zwischen- im Vergleich zur Eingangsuntersuchung keine signifikanten Änderungen von PPD und CAL innerhalb der

Placebogruppe. Im gleichen Zeitraum konnte aber eine statistisch signifikante Abnahme der mittleren Messwerte beider Indizes innerhalb der Verumgruppe festgestellt werden. Im Rahmen der Abschlussuntersuchung konnten im Vergleich zu den eingangs erhobenen Werten signifikante Unterschiede in beiden Gruppen bei beiden Indizes gemessen werden. Die entsprechenden Analysedaten sind Tabelle 6 zu entnehmen. Die Werte beider Parameter in der Placebogruppe nahmen in diesem Zeitraum signifikant zu, während in der Verumgruppe jeweils eine Abnahme zu verzeichnen war. Im Ergebnis wurde ein statistisch signifikanter Unterschied von 0,5 mm Sondierungstiefe sowie 0,6 mm klinischer Attachmentlevel zwischen den beiden Gruppen festgestellt.

Die Gruppenunterschiede im zeitlichen Studienverlauf sind in den darauffolgenden Abbildungen 17 und 18 visualisiert.



*Abbildung 17: PPD – Entwicklung im zeitlichen Studienverlauf
Entwicklung der mittleren klinisch sondierbaren Taschentiefen bei Verum- und Placebogruppe im zeitlichen Verlauf der Studienuntersuchungen*



*Abbildung 18: CAL – Entwicklung im zeitlichen Studienverlauf
Entwicklung des mittleren klinischen Attachmentlevels bei Verum- und Placebogruppe
im zeitlichen Verlauf der Studienuntersuchungen*

Die Abbildungen 17 und 18 zeigen die Entwicklung der klinisch gemessenen sondierbaren Taschentiefen und des erhobenen klinischen Attachmentlevels, getrennt nach Placebo- bzw. Verumgruppe, auf der Zeitachse im Verlauf der drei Studienuntersuchungen. Die Ausdehnung der dargestellten Standardabweichung ist der intraindividuellen Unterschiede der Probanden geschuldet. In diesen Abbildungen ist der jeweils entgegengesetzte Verlauf der Veränderungen der Mittelwerte von Sondierungstiefen und klinischem Attachmentlevel in den beiden experimentellen Gruppen zu erkennen, aus dem letztendlich der signifikante Unterschied zwischen Verum- und Placebogruppe zum Zeitpunkt der Abschlussuntersuchung resultiert. Dabei konnte eine Reduzierung in der Verum- und ein Anstieg in der Placebogruppe gemessen werden.

4.4 Gingival-Index

Nachfolgend sind die Ergebnisse der Datenanalyse der klinisch erfassten Gingival-Index-Werte (GI) dargestellt.

Tabelle 7: GI – Unterschiede Eingangs-/Zwischenuntersuchung

Durchschnittlicher GI zum Zeitpunkt der Eingangs- und Zwischenuntersuchung sowie Unterschiede innerhalb und zwischen Placebo- und Verumgruppe (n: Anzahl der Probanden, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, P: Irrtumswahrscheinlichkeit, ANCOVA: Kovarianzanalyse, CI: Konfidenzintervall, Abweichungen zu 100% sind Rundungen von Zwischenergebnissen geschuldet)

| Gingival Index | Placebogrp n=35 | Verumgrp n=33 | Unterschied (ANCOVA) |
|--|----------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Eingangsunters. – MW (SD) | 1.3 (0.4) | 1.3 (0.5) | |
| Zwischenunters. – MW (SD) | 1.3 (0.4) | 0.7 (0.4) | |
| Unterschied – MW (95% CI) | -0.1 (-0.2...-0.0) | -0.6 (-0.7...-0.5) | -0.5 (-0.6...-0.4) |
| Unterschied zwischen den Grp – P-Wert | | | <0.001 |
| Unterschied innerhalb der Grp – P-Wert | 0.03 | <0.001 | |

Tabelle 8: GI – Unterschiede Eingangs-/Abschlussuntersuchung

Durchschnittlicher GI zum Zeitpunkt der Eingangs- und Abschlussuntersuchung sowie Unterschiede innerhalb und zwischen Placebo- und Verumgruppe (n: Anzahl der Probanden, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, P: Irrtumswahrscheinlichkeit, ANCOVA: Kovarianzanalyse, CI: Konfidenzintervall, Abweichungen zu 100% sind Rundungen von Zwischenergebnissen geschuldet)

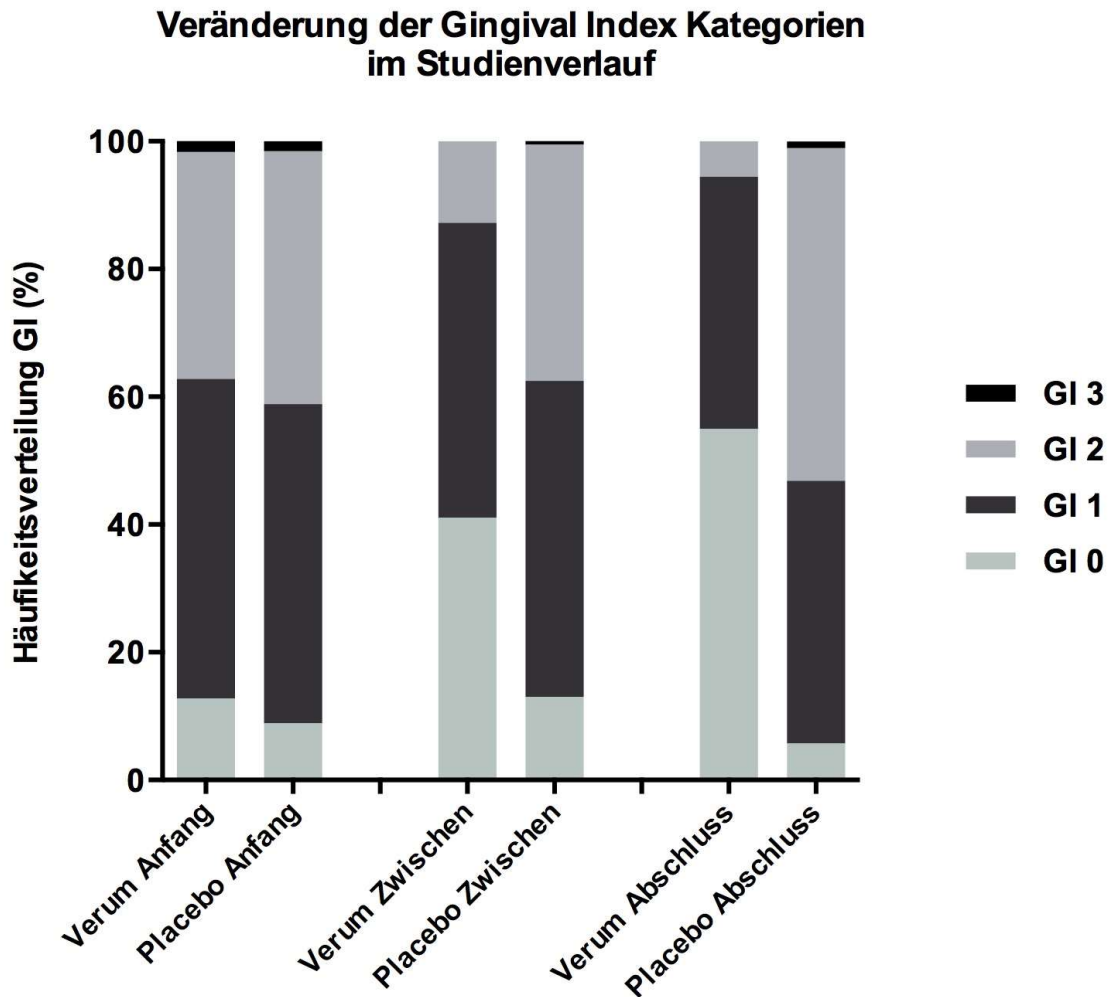
| Gingival Index | Placebogrp n=32 | Verumgrp n=30 | Unterschied (ANCOVA) |
|--|----------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Eingangsunters. – MW (SD) | 1.3 (0.4) | 1.3 (0.5) | |
| Abschlussunters. – MW (SD) | 1.5 (0.4) | 0.5 (0.4) | |
| Unterschied – MW (95% CI) | +0.1(+0...+0.3) | -0.8 (-0.9...-0.6) | -0.9 (-1.1...-0.8) |
| Unterschied zwischen den Grp – P-Wert | | | <0.001 |
| Unterschied innerhalb der Grp – P-Wert | 0.01 | <0.001 | |

In den beiden Tabellen 7 und 8 sind die Veränderungen innerhalb der Placebo- bzw. der Verumgruppe sowie die Unterschiede zwischen beiden Gruppen von der Eingangs- bis zur Zwischenuntersuchung bzw. von der Eingangs- bis zur Abschlussuntersuchung aufgeführt.

Dargestellt sind hier die Ergebnisse der Primäranalyse. Die LOCF-Analyse kommt zu gleichartigen Ergebnissen (Anhang 8). Die Mittelwerte beziehen sich auf den Durchschnitt der einen jeweils beurteilten Fläche an den sechs Ramfjordzähnen jedes Probanden. Es liegen also insgesamt sechs Messwerte je Proband und Untersuchung zu Grunde.

Nach 14 Tagen konnte eine Abnahme der mittleren Gingival-Index-Werte in beiden Gruppen beobachtet werden. Diese war jedoch in der Verumgruppe wesentlich ausgeprägter, so dass sich die beobachteten Gingival-Index-Werte beider experimenteller Gruppen bei der Zwischenuntersuchung signifikant voneinander unterschieden (Tab. 7). Tabelle 8 zeigt, dass eine weitere Vergrößerung dieses Unterschieds zwischen den Gruppen im Rahmen der Abschlussuntersuchung festgestellt werden konnte. Es kam zu einer signifikanten Zunahme in der Placebogruppe bei gleichzeitiger weiterer Abnahme des mittleren Gingival-Index in der Verumgruppe.

In der folgenden Abbildung 19 sind die Gruppenunterschiede der Häufigkeitsverteilung der GI-Kategoriewerte im zeitlichen Studienverlauf aufbereitet.



*Abbildung 19: GI – Entwicklung der Häufigkeitsverteilung
Häufigkeitsverteilung der erfassten Gingival-Index Kategoriewerte bei Verum- und Placebogruppe im zeitlichen Verlauf der Studienuntersuchungen*

In Abbildung 19 ist die Häufigkeitsverteilung der erfassten Gingival-Index-Kategorie-Werte im zeitlichen Verlauf der drei Studienuntersuchungen getrennt nach Placebo- und Verumgruppe dargestellt.

In der Verumgruppe kam es im zeitlichen Verlauf der Studie zu einer Zunahme der Kategorie 0 bei Zwischen- und Abschlussuntersuchung. Gleichzeitig waren eine Reduzierung der Kategorie 2 sowie ein gänzlich Fehlen der Kategorie 3 zu verzeichnen. In der Placebogruppe konnte eine Zunahme der Kategorie 2 im

Rahmen der Abschlussuntersuchung bei gleichzeitiger Abnahme in Kategorie 0 und 1 beobachtet werden.

In Tabelle 9 ist die absolute Anzahl der Probanden getrennt nach Verum- und Placebogruppe dargestellt, die einen Anstieg, eine Reduktion oder aber keine Veränderung der klinisch erfassten Gingival-Index-Mittelwerte zwischen Eingangs- und Abschlussuntersuchung zeigten.

Tabelle 9: GI – Veränderungen je Proband

Anzahl der Probanden entsprechend der Zu- bzw. Abnahme des mittleren Gingival-Index innerhalb der Placebo- bzw. Verumgruppe zum Zeitpunkt der Abschluss- im Vergleich zur Eingangsuntersuchung (n: Anzahl der Probanden)

| Veränderung GI-Mittelwert im Studienzeitraum | Anzahl Probanden Placebogruppe n=32 | Anzahl Probanden Verumgruppe n=30 |
|---|--|--|
| Anstieg bis 1 | 3 | - |
| Anstieg bis 0,5 | 13 | 2 |
| keine Veränderung | 10 | - |
| Abnahme bis 0,5 (davon Abnahme auf GI=0) | 6 | 7 (0) |
| Abnahme bis 1 (davon Abnahme auf GI=0) | - | 15 (1) |
| Abnahme größer 1 (davon Abnahme auf GI=0) | - | 6 (1) |

In der Verumgruppe wiesen lediglich zwei Probanden eine Verschlechterung der klinisch erfassten Entzündung der Gingiva auf. Bei allen anderen Probanden dieser Gruppe konnte eine Verbesserung des GI festgestellt werden. Die Hälfte aller Probanden der Verumgruppe verbesserte sich im Durchschnitt um eine halbe bis eine Kategorie.

In der Placebogruppe zeigte sich dagegen bei der Hälfte aller Probanden ein Anstieg des Gingival-Index.

4.5 Plaque Control Record

Nachfolgend sind die Ergebnisse der Datenanalyse der klinisch erfassten Plaque Control Record-Messwerte (PCR) dargestellt.

Tabelle 10: PCR – Unterschiede Eingangs-/Zwischenuntersuchung

Durchschnittliche Anzahl PCR-Messwerte in % zum Zeitpunkt der Eingangs- und Zwischenuntersuchung sowie Unterschiede innerhalb und zwischen Placebo- und Verumgruppe

(n: Anzahl der Probanden, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, P: Irrtumswahrscheinlichkeit, ANCOVA: Kovarianzanalyse, CI: Konfidenzintervall, Abweichungen von 100% sind Rundungen von Zwischenergebnissen geschuldet)

| % Flächen Plaque Control Record | Placebogrp n=35 | Verumgrp n=33 | Unterschied (ANCOVA) |
|--|----------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Eingangsunters. – MW (SD) | 88 (11) | 83 (11) | |
| Zwischenunters. – MW (SD) | 90 (11) | 74 (16) | |
| Unterschied – MW (95% CI) | +2 (-2...+6) | -8 (-14...-3) | -16 (-22...-10) |
| Unterschied zwischen den Grp – P-Wert | | | <0.001 |
| Unterschied innerhalb der Grp – P-Wert | 0.35 | 0.004 | |

Tabelle 11: PCR – Unterschiede Eingangs-/Abschlussuntersuchung

Durchschnittliche Anzahl PCR-Messwerte in % zum Zeitpunkt der Eingangs- und Abschlussuntersuchung sowie Unterschiede innerhalb und zwischen Placebo- und Verumgruppe

(n: Anzahl der Probanden, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, P: Irrtumswahrscheinlichkeit, ANCOVA: Kovarianzanalyse, CI: Konfidenzintervall, Abweichungen von 100% sind Rundungen von Zwischenergebnissen geschuldet)

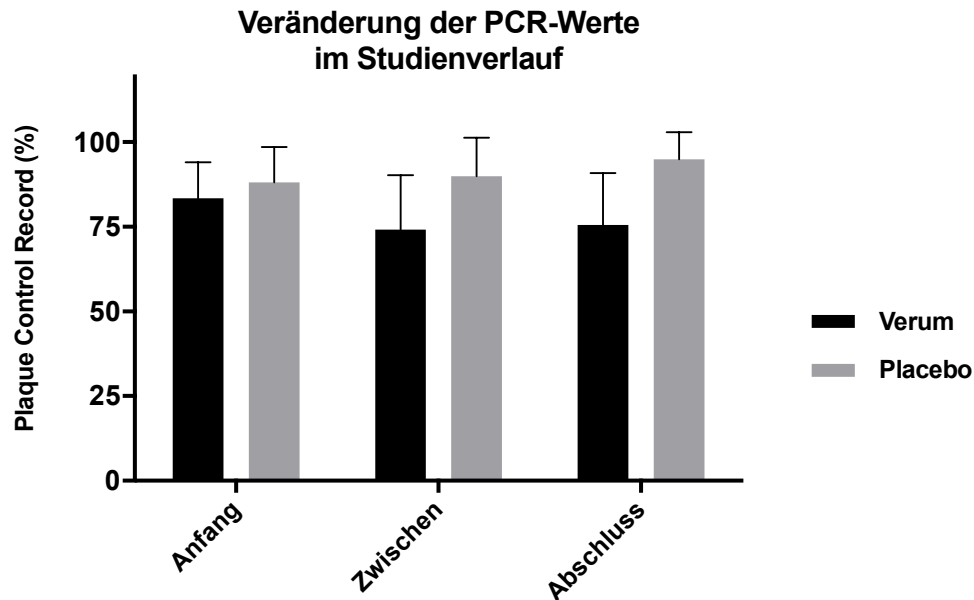
| % Flächen Plaque Control Record | Placebogrp n=32 | Verumgrp n=30 | Unterschied (ANCOVA) |
|--|----------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Eingangsunters. – MW (SD) | 89 (9) | 83 (11) | |
| Abschlussunters. – MW (SD) | 95 (8) | 76 (15) | |
| Unterschied – MW (95% CI) | +6 (+3...+10) | -7 (-12...-1) | -16 (-22...-10) |
| Unterschied zwischen den Grp – P-Wert | | | <0.001 |
| Unterschied innerhalb der Grp – P-Wert | 0.002 | 0.02 | |

In den Tabellen 10 und 11 sind die Veränderungen innerhalb der Placebo- bzw. der Verumgruppe sowie die Unterschiede zwischen beiden Gruppen von der Eingangs- bis zur Zwischenuntersuchung bzw. von der Eingangs- bis zur Abschlussuntersuchung aufgeführt.

Dargestellt sind hier die Ergebnisse der Primäranalyse. Die LOCF-Analyse kommt zu nahezu gleichen Ergebnissen (Anhang 8). Die Mittelwerte und Prozentangaben beziehen sich auf den Durchschnitt der jeweils beurteilten vier Flächen an den sechs Ramfjordzähnen jedes Probanden. Es liegen also insgesamt 24 Messwerte je Proband und Untersuchung zugrunde.

In Tabelle 10 zeigte sich zunächst keine signifikante Veränderung der mit Plaque bedeckten Zahnflächen in der Placebogruppe. In der Verumgruppe konnte im gleichen Zeitraum ein signifikanter Rückgang verzeichnet werden. Zum Zeitpunkt der Abschlussuntersuchung nach sechs Wochen konnte in der Placebogruppe insgesamt ein signifikanter Anstieg verzeichnet werden. In der Verumgruppe erfolgte in diesem Zeitraum keine weitere wesentliche Änderung der mittleren PCR-Werte im Vergleich zur Zwischenuntersuchung (Tab. 11).

Die Gruppenunterschiede im zeitlichen Studienverlauf sind in der folgenden Abbildung 20 graphisch dargestellt.



*Abbildung 20: PCR – Entwicklung im zeitlichen Studienverlauf
Entwicklung der mittleren PCR bei Verum- und Placebogruppe im zeitlichen Verlauf der Studienuntersuchungen*

In Abbildung 20 ist die Entwicklung der Veränderungen der mittleren Plaque Control Record-Werte, getrennt nach Placebo- und Verumgruppe, im zeitlichen Verlauf der drei Studienuntersuchungen dargestellt.

Diese Abbildung veranschaulicht die gegenläufige Entwicklung der mittleren PCR-Werte der beiden experimentellen Gruppen, so dass zu Studienende signifikante Gruppenunterschiede zu verzeichnen waren.

5 Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie legen nahe, dass der regelmäßige Konsum probiotischer, *L. reuteri*-haltiger Lutschtabletten einer einsatzbedingten Verschlechterung der klinischen Ausprägung der parodontalen Gesundheit von Soldaten vorbeugen kann. In diesem Zusammenhang ist darüber hinaus eine signifikante Reduzierung der klinischen gingivalen und parodontalen Entzündungszeichen, der Sondierungstiefen, des klinischen Attachmentlevels und ein signifikanter, hemmender Einfluss auf den Plaquebedeckungsgrad der Zähne offensichtlich.

5.1 Methode

5.1.1 Studiendesign

Die Studie wurde in einem randomisierten, doppelblinden, placebokontrollierten, zweiarmigen Studiendesign durchgeführt. Diese Anordnung beugt einer möglichen Beeinflussung der Probandenauswahl oder der Studienergebnisse durch den Untersucher oder die Probanden vor.

5.1.2 Organisatorische Rahmenbedingungen

Maßgaben für die Probandenauswahl

Die Probanden für diese Studie sollten aus gesunden Soldaten, die den beabsichtigten Studienzeitraum von sechs Wochen im Einsatz oder unter vergleichbaren Bedingungen verbringen würden, rekrutiert werden.

Die Gruppe potentieller Probanden musste aus einer ausreichend großen Soldatenanzahl bestehen, um genügend Freiwillige generieren zu können. Die Probanden sollten nicht aus zahnärztlichen Patienten, gleich aus welchem Grund diese sich beim Zahnarzt vorgestellt hätten, gewonnen werden, sondern die Studienteilnahme sollte für alle Soldaten möglich sein. Damit sollte einer möglichen unkontrollierten Selektion innerhalb der potentiellen Studienteilnehmer vorgebeugt werden.

Weiterhin sollte im Studienzeitraum keine zahnärztliche Versorgung für die Soldaten seitens der Bundeswehr vorgesehen sein, weil das Angebot zahnärztlicher Versorgung im Einsatz durch die Soldaten gerne angenommen und vielfach auch zur Prävention genutzt wird. Eine Studienteilnahme hätte eine zahnärztliche Präventionsmaßnahme in diesem Zeitraum aber ausgeschlossen und sich so unter Umständen negativ auf die freiwillige Bereitschaft zur Studienteilnahme auswirken können.

Die Entscheidung wurde unter Berücksichtigung aller Parameter zu Gunsten einer seegehenden Marineeinheit getroffen, was sich im Ergebnis in der Durchführung bewährt hat. Ausschlaggebend für diese Entscheidung war u. a., dass die Phase der Einsatzvorbereitung bei der Marine den Einsatzbedingungen entspricht, da sich diese Phase auf der Plattform Schiff in See unter verschiedenen Übungsszenarien abspielt. Eine Fregattenbesatzung ist eine genügend große und dabei überschaubare potentielle Studienkohorte. Im Rahmen der Einsatzvorbereitung ist im Regelfall keine Bordzahnarztgruppe eingeschifft, es sind aber zahnärztliche Reihenuntersuchungen zur Feststellung der sogenannten „Dental Fitness Class“ nach einheitlichem NATO-Standard (NATO 2014) verpflichtend. Die Möglichkeit, eine solche Reihenuntersuchung mit der Information, Aufklärung und Rekrutierung von freiwilligen Studienteilnehmern zu verbinden, erschien ideal. Die letztendliche Auswahl des Studienschiffes erfolgte aufgrund zeitlich passender Rahmenbedingungen und der Compliance der Schiffsführung, ohne die ein solches Vorhaben nicht erfolgreich durchzuführen gewesen wäre.

Studienkollektiv

Eine Schiffsbesatzung als Kollektiv verfügt über einige Besonderheiten, die den Eigentümlichkeiten der Marine an Bord seegehender Einheiten geschuldet sind (siehe 3.2.2 Material und Methode – Studienkollektiv) und die z. T. ganz erhebliche Auswirkungen auf mögliche Studienergebnisse haben können.

So schließen diese Besonderheiten beispielsweise falsche oder ungenaue Angaben der Probanden bezüglich ihres jeweiligen Gesundheitszustandes oder

möglicher Medikation genauso aus wie systemische oder chronische Erkrankungen, so dass ein Einfluss bestimmter, als Risikofaktoren allgemein anerkannter Erkrankungen oder Medikamente auf die Studienparameter objektiv ausgeschlossen werden konnte.

Durch die vorgegebenen Rahmenbedingungen der Lebensumstände (siehe 3.2.2 Material und Methode – Studienkollektiv) existieren systemimmanente, vergleichsweise kontrollierte Studienbedingungen, die in ziviler Umgebung so nur mit ganz erheblichem Aufwand geschaffen werden könnten. Neben der generell einheitlichen Lebensweise und dem Fehlen chronischer oder systemischer Erkrankungen gelten diese relativ homogenen Voraussetzungen insbesondere auch für Stressbelastung und Ernährung der Besatzung. Genau diese Faktoren bestimmen u. a. das individuelle Risikoprofil eines Menschen hinsichtlich parodontaler Erkrankungen mit und modellieren die Erkrankungen dieses Formenkreises offenbar entscheidend (*Genco/Borgnakke 2013, Baumgartner et al. 2009, Jockel-Schneider et al. 2016*). Durch das Vereinheitlichen eines erheblichen Teils dieser Einflussfaktoren können diese als mögliche Ursache für Progression oder Regression von Krankheitssymptomen im Rahmen dieser Studie unbeachtet bleiben, da sie für alle Probanden gleichermaßen gelten oder auch gleichermaßen nicht vorherrschen. Damit ist ein Teil der Komplexität der betrachteten Krankheit gewissermaßen aufgehoben. In der vorliegenden Studie unter diesen Bedingungen beobachtete Effekte können so mit einer höheren Wahrscheinlichkeit kausal zugeordnet werden.

Der als zentral anerkannte Risikofaktor Rauchen (*Nociti et a. 2015*) wurde in diesem Zusammenhang gesondert untersucht und bei der Gruppenverteilung im Sinne einer gleichmäßigen Verteilung der Raucher auf die beiden experimentellen Gruppen beachtet. Es wurden bewusst Raucher als Probanden zugelassen, um die Lebenswahrheit abzubilden. Raucher werden aus vielen anderen Studien ausgeschlossen, so dass keine Aussagen darüber möglich sind, ob prophylaktische oder therapeutische Maßnahmen bei ihnen in gleicher Art und Weise wirksam sind.

Untersuchungszeiträume

Im ursprünglichen Studienprotokoll war vorgesehen, jeden Probanden zu Studienbeginn und -abschluss während einer Seefahrt an Bord zu untersuchen (siehe 3.2.4 Material und Methode – Organisatorische Rahmenbedingungen – Untersuchungszeiträume).

Eine Untersuchung im Heimathafen hätte die Bereitschaft zur Unterstützung der Studie seitens der Marine erheblich verringert, da die in der Einsatzvorbereitung zur Verfügung stehende Zeit einer Schiffsbesatzung ohnehin sehr begrenzt ist und nicht noch zusätzlich durch nicht einsatzrelevante Tätigkeiten belastet werden sollte. Weiterhin wurden negative Auswirkungen auf die freiwillige Teilnahme befürchtet, wenn die Untersuchungen im Heimathafen anberaumt worden wären. Sich kurzfristig ergebende dienstliche Freiräume im Heimathafen werden durch die Besatzungen erfahrungsgemäß zum Ausgleich vorgeleisteter Dienstzeit in Freizeit genutzt. Potentielle Freiwillige hätten sich unter Umständen nicht zeitlich an eine Studienteilnahme binden lassen wollen. Studienteilnehmer, die kurzfristig frei bekommen hätten, hätten wahrscheinlich nicht zu Gunsten der Studie darauf verzichtet und wären dann vermutlich nicht zur Untersuchung erschienen.

Die möglichen Auswirkungen der auch unter 3.2.4 bereits beschriebenen unplanmäßigen Dock-Phase der Fregatte *Brandenburg* auf den weiteren Übungs- und Einsatzplan des Schiffes und damit auch auf den weiteren Studienverlauf waren zunächst nicht absehbar. Schlimmstenfalls hätte es zu einem Abbruch der Studie bei fehlender Abschlussuntersuchung kommen können. Die Besatzung wäre während einer längeren Liegezeit im Arsenal nicht in voller Stärke dort benötigt worden und daher sicherlich in den Urlaub geschickt oder anderweitig dienstlich eingesetzt worden. Der weitere Verlauf der Studie wäre nicht wie geplant möglich gewesen.

Zur Sicherstellung eines sinnvollen Projektabschlusses bei unklarer Lage wurde auf der Grundlage der Beobachtungen von Krasse et al. 2006, die bereits nach 14 Tagen eine Reduzierung von Gingivitis im Zusammenhang mit dem Konsum von *L. reuteri*-haltigem Kaugummi verzeichnet hatten, eine zusätzliche Untersuchung geplant und durchgeführt.

Die Fregatte *Brandenburg* konnte dann aber doch ihre Seefahrtsvorhaben mit nur geringfügiger Abwandlung wie geplant durchführen, so dass zum ursprünglichen Studienprotokoll zurückgekehrt werden konnte. Die zusätzliche (Zwischen-)Untersuchung macht es nun möglich, die Entwicklung der Veränderungen der oralen Parameter im zeitlichen Verlauf darzustellen und zu bewerten.

Studienteam

Alle drei klinischen Studienuntersuchungen aller Probanden wurden vom selben Studienteam, bestehend aus Prüfzahnärztin und Dentalhygienikerin, durchgeführt. Das Studienteam, dem die Zuordnung der Probanden zur Verum- oder Placebogruppe nicht bekannt war, verfügte über jahrelange gemeinsame Berufserfahrung als Team u. a. in der zahnärztlichen wehrmedizinischen Begutachtung und war auch routiniert in der zahnärztlichen Tätigkeit unter den erheblich erschwerten Bedingungen an Bord. Ein reibungsloser Ablauf der klinischen Studienuntersuchungen und deren Dokumentation waren so durchgängig gewährleistet und Fehler durch Missverständnisse oder nicht abgestimmten Workflow demnach nahezu ausgeschlossen. Das Auftreten systematischer Mess- und Beurteilungsfehler im Rahmen der klinischen Datenerhebung kann damit aber nicht ausgeschlossen werden. Untersucher-spezifische Abweichungen in der absoluten Höhe der einzelnen Werte für einen bestimmten Index würden jedoch als systematischer Fehler alle Probanden gleichermaßen unabhängig ihrer Zuordnung zu einer der beiden experimentellen Gruppen betreffen. Die beobachteten relativen Unterschiede zwischen Verum- und Placebogruppe sowie zwischen den einzelnen Studienuntersuchungen werden von einem solchen Untersucher-Bias nicht berührt.

Gruppengröße

Es wurde in der Poweranalyse eine Mindestprobandenzahl von 22 Probanden je Gruppe berechnet (siehe 3.8 Datenauswertung und Statistik – Berechnung der Gruppengröße).

Zu den Besonderheiten der Marine an Bord gehört auch die unvorhersehbare Ausschiffung von Personal aus den unterschiedlichsten Gründen. Diese stehen dann nicht mehr als Probanden unter den beabsichtigten Rahmenbedingungen

zur Verfügung, so dass die Anzahl an möglichen Studienabbrechern schwer kalkulierbar war. Diesem Umstand wurde mit einer Erhöhung der in der Poweranalyse berechneten Mindestprobandenzahl Rechnung getragen. Es wurden für 36 Probanden je Gruppe Studienlutschtabletten vorgehalten.

5.1.3 Klinische Untersuchung

Zahnärztliche Intervention

Die klinischen Studienuntersuchungen wurden nicht mit einer professionellen Zahnreinigung verbunden, um die Studienparameter nicht von zahnärztlicher Seite zu verändern. Eine solche Intervention hat Einfluss auf die orale Gesundheit (Axelsson et al. 2004). Die Ausprägung des jeweiligen Effekts kann aber nicht individuell exakt beziffert und ursächlich auch nicht klar zugeordnet werden. Auch die zeitliche Dauer der Beeinflussung kann nicht genau vorhergesagt werden (siehe 1.1.2/1.1.3 Parodontale Erkrankungen – Ätiopathogenese/Prävention und Therapie). Es wurden also im Beobachtungszeitraum der vorliegenden Studie keine zahnärztlich präventiven Maßnahmen bei den Studienteilnehmern durchgeführt und es fand auch darüber hinaus keine zahnärztliche Behandlung statt, um einer nicht berechenbaren Verzerrung der Ergebnisse vorzubeugen. Mögliche Veränderungen sollten weitestgehend mit der Studienintervention in einen kausalen Zusammenhang gebracht werden können und nicht durch zahnärztliche Intervention hervorgerufen worden sein. Auch durch Patientenanstrengungen verursachte Veränderungen der Studienparameter sollten nach Möglichkeit minimiert werden. Die Probanden wurden daher angewiesen, ihre Zahnpflegegewohnheiten beizubehalten und es wurde bewusst kein aktiver, professioneller Einfluss auf die habituelle Mundhygiene der Probanden in Form von Mundhygieneinstruktionen oder sonstiger diesbezüglicher zahnärztlicher Beratung genommen. Dahinter stand die Annahme, dass Probanden, die nicht speziell hinsichtlich der Optimierung ihrer Mundhygiene geschult worden waren, die Befähigung zu einer mustergültigen Zahnpflege fehlt. Die Probanden könnten demzufolge, selbst wenn sie gewollt hätten, keine im Ergebnis zielführende Verhaltensänderung in Bezug auf ihre

Mundhygiene durchmachen und dementsprechend auf diese Weise auch keinen grundlegenden Einfluss auf die Studienparameter ausüben.

Verwendung der Ramfjordzähne

Die klinische Datenerhebung am gesamten Gebiss der Probanden hätte den an Bord zur Verfügung stehenden Zeitrahmen für die Studienuntersuchungen in erheblichem Maße überschritten, so dass eine Eingrenzung des Untersuchungsumfangs bei gleichzeitigem größtmöglichen Erhalt der Informationen vorgenommen werden musste. In der vorliegenden Studie wurden daher stellvertretend für das Gesamtgebiss die sogenannten Ramfjordzähne 16, 21, 24, 36, 41 und 44 untersucht, deren repräsentative Erfassung der parodontalen Gesamtsituation valide in diversen Untersuchungen nachgewiesen wurde (*Fleiss et al. 1987*). Sollte trotzdem ein systematischer Daten-Bias vorgelegen haben, der die tatsächliche parodontale Gesundheit der Probanden über- oder unterschätzt hätte, so wäre dieser für beide experimentellen Gruppen und für alle drei Untersuchungszeitpunkte gleich groß und damit zur Verifizierung der Studienhypothese ohne Belang.

Auswahl der Indizes

Grundsätzlich orientierte sich die Auswahl der Indizes für die klinische Datenerhebung an den nachfolgenden Kriterien. Die zu erhebenden Daten sollten den Status der parodontalen Gesundheit der Probanden ausreichend umfassend abbilden, mit den Daten anderer Studien vergleichbar und außerdem unkompliziert und mit den an Bord einsetz- und verfügbaren Instrumenten zu erheben sein. Darüber hinaus sollte die Erfahrung des Studienteams Berücksichtigung finden, da vorhandene Routine beim Untersucherteam zur Fehlervermeidung beitragen würde.

Bleeding on Probing (BoP)

Als primärer Endpunkt der Studie wurde die Anzahl der auf schonende Sondierung des gingivalen Sulkus blutenden Messtellen gewählt. Der BoP ist ein in vielen klinischen Studien verwendeter Parameter zur Verifizierung einer manifesten parodontalen Entzündung. Eine korrekte Messung ist u. a. vom verwendeten Anpressdruck und dem Anstellwinkel der Sonde abhängig.

Der Einsatz von druckkalibrierten, elektronischen Parodontalsonden ist geeignet, einem potentiellen Messfehler durch fehlerhaften Anpressdruck entgegenzuwirken (*Ericsson/Lindhe* 1993).

Vor dem Hintergrund, dass die Möglichkeit zur Sterilisation an Bord nicht ausreichend sicher für den beabsichtigten Studienzeitraum gewährleistet werden konnte und keine 72 druckkalibrierten, elektronischen Parodontalsonden für jede Studienuntersuchung zur Verfügung standen, wurde auf Einmalinstrumentarium zurückgegriffen. Damit wurde diese mögliche Fehlerquelle bewusst in Kauf genommen. Messfehler der immer gleichen, erfahrenen Untersucherin sind mit hoher Wahrscheinlichkeit systematische Fehler, die alle Probanden gleichermaßen betreffen. Da im Rahmen der Studie nicht die absolute Höhe der Werte, sondern die relativen Unterschiede zwischen den Gruppen und/oder verschiedenen Untersuchungszeiträumen verglichen und beurteilt werden sollten, werden die Studienergebnisse von dieser Untersucher Bias nicht berührt.

Pocket Probing Depth (PPD) und Clinical Attachment Level (CAL)

Das gilt im Weiteren genauso für die klinische Erhebung von Taschen- sondierungstiefe (Pocket Probing Depth; PPD) und klinischem Attachmentniveau (Clinical Attachment Level; CAL). Beides gibt einen Anhalt über den klinischen Schweregrad einer Gingivitis bzw. Parodontitis und wird zeitgleich mit dem BoP im Rahmen derselben Sondierung des gingivalen Sulkus erhoben.

Gingival-Index (GI)

Der Gingival-Index nach *Löe* und *Silness* wurde in der vorliegenden Studie angewendet, um eine Veränderung in der Häufigkeit bzw. der Intensität manifester, gingivaler Entzündungen verifizieren zu können. Dieser Index entspricht einem in einer Vielzahl klinischer Studien verwendeten Standard, der den Vergleich der Ergebnisse dieser Untersuchung mit den Daten anderer Arbeitsgruppen wesentlich erleichtert. Es handelt sich um einen kategorialen Index mit den Schweregraden von 0 bis 3, die im Wesentlichen visuell beurteilt werden. Untersucherspezifische Abweichungen bei der Beurteilung der unterschiedlichen Schweregrade können prinzipiell die Validität der Daten beeinflussen. Auch hier gilt, wie oben bereits dargestellt, dass der mögliche systematische Fehler die Studienergebnisse nicht berührt.

Plaque Control Record (PCR)

Die Bedeckung der Zähne mit bakteriellem Biofilm wurde mit Hilfe des Plaque Control Record erfasst. Dieser Index erlaubt nach Anfärben mittels Plaquerelevator eine visuelle Beurteilung der Plaque und wird dichotom dokumentiert. Er wurde zur Beurteilung der Plaquemenge für die vorliegende Studie ausgewählt, weil er als planmetrisches Verfahren an Bord unkompliziert aufgenommen werden konnte. Ein gravimetrisches Verfahren wäre an Bord nicht durchführbar gewesen. Auch hier ist ein Untersucher-Bias durch untersucherspezifische Abweichungen bei der Beurteilung der Plaquebedeckung denkbar, würde aber aus den bereits bei den vorangegangenen Indizes beschriebenen Gründen die Studienergebnisse nicht berühren.

Dieser Index ist auch in anderen Studien verwendet worden, deren Ergebnisse sich somit direkt vergleichen lassen. Das Anfärben der Plaque garantiert ein hohes Maß an Genauigkeit, es wird aber nur zwischen dem Vorhandensein und der Abwesenheit von Plaque unterschieden. Eine komplett mit Plaque bedeckte Zahnfläche fällt bei der Aufnahme des PCR in die gleiche Kategorie, wie ein schmaler Saum am Gingivarand, der durch initiale Bakterienbesiedlung einige Stunden nach mechanischer Zahnreinigung entstanden sein könnte.

Die Wahl eines differenzierteren Indexes wäre retrospektiv betrachtet möglicherweise sinnvoll gewesen, um Unterschiede noch besser herausarbeiten zu können. Der Plaque-Index nach *Quingley&Hein* in der von *Turesky et al.* modifizierten Form unterscheidet zum Beispiel sechs Ausprägungsgrade der Plaquebedeckung und lässt so eine größere Genauigkeit in der Beurteilung zu (*Turesky et al.* 1972).

5.1.4 Studienlutschtabletten

Die Stammkombination *L. reuteri* DMS 17938 und *L. reuteri* ATCC PTA 5289 wurde auf der Grundlage der gegenwärtig verfügbaren Evidenz zur Anwendung in der vorliegenden Studie ausgewählt.

Die Probandensicherheit war unabdingbar und hatte Priorität in der Auswahl der Studienlutschtabletten (siehe 1.2.3 Probiotika – *Lactobacillus reuteri* – klinische Anwendung – Sicherheit).

Weiterhin sollte das verwendete Studienpräparat einerseits vorübergehend in der Mundhöhle kolonisieren, um dort wirken zu können, andererseits sollte es aber zu keiner dauerhaften Besiedelung kommen. Solange die genauen Wirkmechanismen nicht vollständig geklärt sind, wären die Folgen einer dauerhaften oder sogar irreversiblen Veränderung im Mikrobiom nicht absehbar und daher aus hiesiger Sicht zu vermeiden. Die Ansiedlung von den genannten *L. reuteri*-Stämmen in Zahnfleischtaschen und Sulkusfluid ist experimentell genauso belegt (*Krasse et al.* 2006, *Sinkiewicz et al.* 2010), wie der temporäre Charakter dieser Kolonisierung. Bereits kurze Zeit nach Beendigung der Einnahme des Präparates ist *L. reuteri* aus der Mundhöhle ausgewaschen und nicht mehr nachweisbar (*Twetman et al.* 2009, *Sinkiewicz et al.* 2010).

Wie einleitend bereits beschrieben scheint die Wirkungsweise von Probiotika evident stammspezifisch zu sein, so dass gesundheitsfördernde Eigenschaften bestimmter Stämme begrenzt sind und nicht ohne weiteres auf Gattungen oder Spezies übertragen werden können (siehe 1.2.1 Probiotika – Allgemeine Grundlagen – Wirkung). Probiotika werden daher oft in Kombination miteinander verwendet, um die Anzahl der positiven Effekte zu erhöhen (*Teughels et al.* 2008). Die Stammkombination *L. reuteri* DMS 17938 und *L. reuteri* ATCC PTA

5289 kann derzeit die größte klinische Evidenz hinsichtlich der Anwendung von Probiotika in der Mundhöhle mit überwiegend positiven Ergebnissen in Bezug auf Veränderungen von Parametern der oralen Gesundheit auf sich vereinen (siehe 1.2.3 Probiotika – *Lactobacillus reuteri* – Klinische Anwendung). Unterschiedliche Wirkmodalitäten dieser Stammkombination sind bereits beschrieben, gleichwohl sind bislang noch nicht alle Wirkmechanismen gänzlich geklärt (siehe 1.2.3 Probiotika – *Lactobacillus reuteri* – Wirkung).

Verum- und Placebolutschtabletten waren bis auf die Zugabe von *L. reuteri* identisch. Alle experimentellen Lutschtabletten waren in einheitlichen, neutralen Dosen verpackt und wurden durch die Firma BioGaia an das Schifffahrtmedizinische Institut der Marine als der „Heimatbasis“ für die Einschiffung des Studienteams geliefert. Die Randomliste wurde durch die Universität Würzburg erstellt und ausschließlich personalisiert an die Studynurse des Schifffahrtmedizinischen Instituts der Marine versendet, die dann die einheitliche Beschriftung der Studienlutschtabletten-Dosen vorgenommen hat. Eine Zuordnung der Verum- bzw. Placebolutschtabletten durch Untersucher oder Probanden kann daher ausgeschlossen werden und somit auch jeder diesbezügliche Einfluss. Während des Studienzeitraums haben einige Probanden ihre jeweiligen Lutschtabletten untereinander verglichen und im Zuge dessen einen mutmaßlichen Unterschied in der Farbe der Lutschtabletten verschiedener Probanden beobachtet. Eine Zuordnung von Lutschtabletten zu einer bestimmten experimentellen Gruppe war damit aber nicht möglich und es konnten auch keine erkennbaren Auswirkungen auf den Konsum der Lutschtabletten festgestellt werden. Die Analyse der Compliance zeigte letztendlich keine klinisch relevanten gruppenspezifischen Unterschiede. In der Placebogruppe wurden durchschnittlich 1,63 (SD: 0,38) und in der Verumgruppe 1,7 (SD: 0,32) Tabletten pro Tag im Beobachtungszeitraum konsumiert.

5.2 Ergebnisse

In der vorliegenden Studie wurde bei Soldaten unter einsatzgleichen Bedingungen in der Placebogruppe eine signifikante Verschlechterung der parodontalen Entzündungsverhältnisse festgestellt. Es zeigte sich, dass die in der Verumgruppe verwendeten *L. reuteri*-haltigen, probiotischen Lutschtabletten diese Verschlechterung verhindern konnten. Darüber hinaus vermochten die verwendeten Studienlutschtabletten insbesondere eine klinisch manifeste gingivale bzw. parodontale Entzündung signifikant zu reduzieren.

5.2.1 Probanden

Die 72 an dieser Studie freiwillig teilnehmenden Probanden wurden gleichmäßig auf die beiden experimentellen Gruppen verteilt. Die allgemeinen charakteristischen Merkmale der Probanden zeigten keine signifikanten Gruppenunterschiede, so dass ein entsprechendes Bias unwahrscheinlich ist (siehe Abb. 14: Studienablaufplan, Tab. 1: Probandencharakteristika).

Die erhobenen klinischen Parameter zeigen, dass zu Beginn der vorliegenden Studie keiner der Probanden über gesunde parodontale Verhältnisse verfügte. Durchschnittliche Bleeding on Probing-Werte von 37% bzw. 41% in den experimentellen Gruppen sowie ein mittlerer Gingival-Index von 1,3 mit bis zu 40% Kategorie GI 2 und GI 3 lassen auf eine durchgängige, manifeste Entzündung des Parodonts schließen (siehe Tab. 2: BoP, Tab. 7: GI, Abb. 19: GI Häufigkeitsverteilung). In diesem Zusammenhang muss überdies der im Vergleich zur deutschen Bevölkerung mit 77% überdurchschnittlich große Anteil der rauchenden Probanden berücksichtigt werden (siehe Tab. 1: Probandencharakteristika, *Lampert et al. 2013*). Da Rauchen u. a. eine unterdrückende Wirkung auf die Sondierungsblutung zugeschrieben wird (*Dietrich et al. 2004*), ist der tatsächliche Ausprägungsgrad der parodontalen Entzündung vermutlich sogar noch höher. Auch die durchschnittliche Plaquebedeckung der Zähne war eingangs mit 88% bzw. 83% hoch (siehe Tab. 10: PCR). Unsere Probanden waren mit 27 (\pm 5) Jahren erheblich jünger als die in den Deutschen Mundgesundheitsstudien stellvertretend für die jungen Erwachsenen betrachtete Altersgruppe der 35- bis 44-Jährigen (siehe Tab. 1: Probandencharakteristika,

Jordan/Micheelis 2016). Somit müssen unsere Probanden auch vor dem Hintergrund, dass Alter ein Risikofaktor für parodontale Erkrankungen darstellt (*Hajishengallis* 2014c), im Vergleich zur allgemeinen Bevölkerung als Risikogruppe in Bezug auf parodontale Erkrankungen angesehen werden.

Die beschriebenen Eingangsbefunde decken sich mit anderen epidemiologischen Untersuchungen zur Mundgesundheit von Soldaten (*Plewe* 1992, *Butterbrodt* 1998). In diesem Zusammenhang muss allerdings berücksichtigt werden, dass nicht die gesamte Besatzung im Rahmen der vorliegenden Studie untersucht wurde. Die Studienteilnahme beruhte auf Freiwilligkeit. Damit erfolgte bereits eine nicht steuerbare Selektion der Probanden, die nicht dokumentiert wurde und deren mögliche Auswirkungen daher nicht nachvollzogen werden können. Eine weitere Selektion richtete sich nach klar festgelegten Faktoren, die die Freiwilligen mit den relativ schlechteren Parametern bevorzugt in die Studie einschlossen (siehe 3.4 Material und Methode – Screening und Rekrutierung). Es kann also davon ausgegangen werden, dass die Gesamtbesatzung im Vergleich zu der Gruppe der Studienprobanden parodontal gesünder war.

Dropouts

Zehn Probanden haben die Studie nicht mit der Abschlussuntersuchung abgeschlossen, was einer Dropout-Rate von 14% entspricht. Lediglich vier dieser Probanden haben ihr Einverständnis zur Teilnahme widerrufen, während die anderen sechs, von denen jeweils drei der Verum- bzw. der Placebogruppe zugeordnet waren, aufgrund von nicht mit der Studie im Zusammenhang stehenden Gründen ausgeschifft werden mussten (siehe Abb. 14: Studienablaufplan). Dieser Umstand wurde bereits in die Planung der Studie mit einbezogen (siehe 5.1.2 Diskussion – Methode – Organisatorische Rahmenbedingungen – Gruppengröße). Grundsätzlich kann eine zu hohe Quote von „Aussteigern“ zu einer Verzerrung von Studienergebnissen führen. Das ist im vorliegenden Fall aber unwahrscheinlich, da die Dropouts mehrheitlich der besonderen Rahmenbedingungen der Marine geschuldet sind und nicht ursächlich mit der Studie im Zusammenhang stehen. In diesem Zusammenhang ist die

annähernde Übereinstimmung von Primärer Analyse und LOCF-Analyse ein Anhaltspunkt für die Validität der Daten.

5.2.2 Placebogruppe

In der Placebogruppe konnten zunächst im Rahmen der Zwischenuntersuchung nach zwei Wochen bei den erhobenen Parametern überwiegend nur geringfügige Änderungen konstatiert werden. Nach Abschluss des sechswöchigen Beobachtungszeitraumes wurde dann aber eine signifikante Verschlechterung aller erhobenen Parameter festgestellt (siehe Abb. 15: BoP, Abb. 17: PPD, Abb. 18 CAL, Abb. 19: GI, Abb. 20: PCR zur Entwicklung der Parameter im zeitlichen Studienverlauf).

Zur Entwicklung der Mundgesundheit von Soldaten im Einsatz über einen Zeitraum von zwei Wochen liegen keine Erkenntnisse aus anderen Studien vor. Der kürzeste, in diesem Kontext hier bekannte Beobachtungszeitraum mit dokumentierten Ergebnissen waren acht Wochen (*Stadermann 2001*).

Vermutlich konnten in unserer Studie nach zwei Wochen keine signifikanten Veränderungen in der Placebogruppe beobachtet werden, weil u. a. der Zeitraum für Veränderungen in dieser experimentellen Gruppe zu kurz war. Entzündungen brauchen Zeit, um sich unter den vorgegebenen Einflussfaktoren entwickeln zu können. Darüber hinaus könnte auch eine Art *Hawthorne*-Effekt in Hinsicht auf die individuelle Mundhygiene der Soldaten zu verzeichnen gewesen sein, zumal die Studie insbesondere in der ersten Zeit und während der Anwesenheit des Studienteams an Bord sehr präsent war. Die Zeiträume für die Studienuntersuchungen hatten Eingang in die jeweiligen Tagesdienstpläne der Besatzung gefunden und wurden auch täglich im Rahmen der Routineappelle besprochen. Es gab verschiedene Durchsagen zum Thema mittels der Schiffs-lautsprecheranlage, die für alle Besatzungsangehörigen zu hören waren. Die Studie war regelmäßiges Gesprächsthema an Bord. Während der Einschiffszeiträume des Studienteams wurde die Präsenz der Studie durch den persönlichen Kontakt als temporäre Besatzungsangehörige im gleichen Lebensumfeld noch verstärkt. Diese besondere Aufmerksamkeit klang im Laufe des Studienzeitraums ab, aber es war gewissermaßen unmöglich, an Bord nicht

fortwährend an die Durchführung der Studie erinnert zu werden. Eine mögliche Verhaltensänderung von Studienteilnehmern könnte dadurch beeinflusst worden sein.

Die signifikanten Veränderungen, die in der Placebogruppe zum Zeitpunkt der Abschlussuntersuchung nach sechs Wochen festgestellt wurden (siehe Tab. 3: BoP, Tab. 6: PPD/CAL, Tab. 8: GI, Tab. 11: PCR zu Unterschieden zwischen Eingangs- und Abschlussuntersuchung), stehen vornehmlich im Einklang mit epidemiologischen Studien zur Mundgesundheit von Soldaten im Einsatz (siehe 1.1.1 Parodontale Erkrankungen – Epidemiologie – Veränderungen bei Soldaten unter Einsatzbedingungen). In verschiedenen Untersuchungen konnte ebenfalls eine Verschlechterung des oralen Gesundheitszustandes bei Soldaten im Auslandseinsatz festgestellt werden. Sondierungsblutung und Plaque Index nahmen bei Soldaten während eines Einsatzes nach zwei bzw. vier Monaten tendenziell genauso zu wie Sondierungstiefen (*Stadermann* 2001). Diese Feststellungen konnten in einer weiteren Studie bestätigt werden, in der sich die Mundhygiene sowie auch die parodontalen Verhältnisse im fünfmonatigen Einsatzzeitraum signifikant verschlechterten (*Hein* 2009). In den angeführten Studien wurde u. a. eine Intensivierung zahnärztlich-präventiver Maßnahmen als Lösungsansatz diskutiert, um zu verhindern, dass Auslandseinsätze sich negativ auf den oralen Gesundheitszustand von Soldaten auswirken. Die Verankerung des Anspruchs der Soldaten auf sogenannte einsatzvorbereitende Prophylaxe in den Richtlinien für die unentgeltliche truppenzahnärztliche Versorgung im Jahr 2009 war ein großer Schritt in diese Richtung (BMVg 2009). Allerdings haben bisher veranlasste Maßnahmen nicht verhindern können, dass in der vorliegenden Studie eine Verschlechterung der Mundgesundheit der Probanden eingetreten ist. Unter Berücksichtigung neuerer Erkenntnisse zur Ätiologie der Parodontitis als komplexe dysbiotische Erkrankung (*Hajishengallis/Lamont* 2012) liegt es daher nahe zu vermuten, dass das Problem mit der Optimierung der Mundhygiene und entsprechend professioneller zahnärztlicher Begleitung alleine nicht zu lösen ist. Dieses wird durch die Feststellung unterstrichen, dass Soldaten im Einsatz bei signifikanter Verschlechterung ihres Mundhygienebefundes und des parodontalen Gebisszustandes keine Veränderung ihres eigenen

Mundhygieneverhaltens bemerken (*Hein* 2009). In der gleichen Studie wurde dafür aber ein Zusammenhang zwischen unterschiedlich belastenden Betätigungsfeldern und messbaren Unterschieden bezüglich der Mundhygiene und des parodontalen Zustandes der Soldaten hergestellt. Die Ursachen für die einsatzbedingte Verschlechterung wurden so mit den geänderten Lebensbedingungen, die die Soldaten im Einsatz auch nur in sehr engen Grenzen ändern und individualisieren können, in Zusammenhang gebracht.

Lüpke stellte in diesem Zusammenhang folglich die einsatzbedingte Stressbelastung als möglichen Einfluss auf die parodontale Gesundheit von Soldaten in den Mittelpunkt seiner Studie. Er konnte in der von ihm untersuchten Probandengruppe von im Einsatz befindlichen Soldaten eine signifikante Erhöhung des Grades der gingivalen Entzündung nachweisen. Dies führte im Studienzeitraum von 10 Wochen aber zu keiner ausgedehnteren parodontalen Destruktion. Weitere Parameter änderten sich nur geringfügig (*Lüpke* 2011). Im Unterschied zu unserer und den beiden vorstehend angesprochenen Studien hatte *Lüpke* nur Nichtraucher als Probanden in seine Studie eingeschlossen und diese bereits vor Beginn ihres Einsatzes zu Hause rekrutiert und eingangsuntersucht, so dass er selbst von einer Idealgruppe mit hoher Motivation und einem ebensolchen Gesundheitsbewusstsein ausgegangen ist. Vor diesem Hintergrund schlussfolgerte er selbst, dass auch die beobachteten geringfügigen Veränderungen aussagekräftig gewesen seien.

Aktuelle epidemiologische Studien hinsichtlich der Mundgesundheit von seefahrendem Personal der Marine und möglicher einsatzbedingter Einflüsse liegen nach hiesigem Kenntnisstand nicht vor. Eine vor nunmehr fast 20 Jahren durchgeführte Untersuchung bei Besatzungsangehörigen einer Fregatte in einem mehrmonatigen Einsatzzeitraum ergab eine allgemeine Verschlechterung des Kariesindexes. Die Änderungen der insgesamt schlechten parodontalen Ausgangsverhältnisse – allen Patienten wurden im Rahmen der Einganguntersuchung parodontale Krankheitszeichen attestiert – waren lediglich geringgradig. Zum Zeitpunkt der Abschlussuntersuchung stellte sich die Mundhygiene sogar signifikant besser dar, als zu Beginn der Seefahrt (*Rellermeier* 1998). *Rellermeier* selbst erklärte diese Beobachtung mit der

Hypothese, dass sich die allgemeinen Pflegegewohnheiten bei bevorstehender Heimkehr gemeinhin verbessert hätten. Ungeachtet dieser Vermutung wurden die Besatzungsangehörigen im Gegensatz zu den Probanden unserer Studie während des gesamten Einsatzes durch den Untersucher der Studie auch zahnärztlich beraten und behandelt. Diese Tatsache hatte hiesigen Erachtens nicht nur mutmaßlichen Einfluss auf die Motivation und Compliance der Probanden hinsichtlich ihrer häuslichen Mundhygiene, die erhobenen parodontalen Parameter wurden darüber hinaus auch durch professionelle zahnärztliche Intervention verändert. Das genaue Ausmaß dieses Einflusses lässt sich nicht ableiten, da zwar die erfolgten umfangreichen zahnärztlich-konservierenden und -chirurgischen Leistungen dokumentiert, individualprophylaktische und parodontologische Behandlungen aber nicht näher beziffert wurden.

Die in der vorliegenden Studie mittels Gingival-Index und des Index Bleeding on Probing festgestellte signifikante Verschlechterung der gingivalen Entzündung sowie die der Sondierungstiefen und des klinischen Attachmentlevels in der Placebogruppe (siehe Tab. 3: BoP, Tab. 6: PPD/CAL und Tab. 8: GI) bestätigen somit im Grundsatz die bisher vorliegenden Erkenntnisse entsprechender epidemiologischer Studien. Auch die Zunahme der plaquebedeckten Flächen in der Placebogruppe (siehe Tab. 11: PCR) steht damit in Einklang.

Dies gilt einmal mehr in Anbetracht des Umstandes, dass retrospektiv betrachtet aufgrund einer Ungenauigkeit in der Untersuchungsorganisation ein geändertes Verhalten mancher Probanden hinsichtlich der persönlichen Zahnpflege unmittelbar vor der jeweiligen Studienuntersuchung nicht ausgeschlossen werden kann. Laut Protokoll gab es keine konkrete Anweisung hinsichtlich des Zahnputzverhaltens der Probanden direkt vor der jeweiligen Untersuchung, wie es zum Beispiel in der Studie von *Hein* in der Methode vorgegeben war. Viele Probanden hatten sich daher auch nicht „extra“ vor ihrer Eingangsuntersuchung die Zähne geputzt. Die Probanden waren für ihre Eingangs- und Zwischenuntersuchung größtenteils nicht im Vorfeld terminiert worden, sondern sind je nach Verfügbarkeit direkt vom Arbeitsplatz ohne den Umweg über den Waschraum zur Untersuchung ins Schiffslazarett gebeten worden. Eine erheblich

verbesserte Koordination der Terminplanung für die Abschlussuntersuchungen eröffnete den Probanden Vorbereitungszeiträume, die sie vor vorangegangenen Untersuchungen nicht hatten. Die Probanden könnten diesen Zeitraum zum Zähneputzen genutzt haben. Des Weiteren liegt die Vermutung nahe, dass die Motivation zur Mundhygiene zur Abschlussuntersuchung gestiegen sein könnte. Das Studienteam war den meisten Probanden im zeitlichen Verlauf der Einschiffungen persönlich so bekannt geworden, dass nicht geputzte Zähne möglicherweise als unangenehm empfunden worden wären.

5.2.3 Verumgruppe

In der vorliegenden Studie konnten im Zusammenhang mit dem Konsum *L. reuteri*-haltiger Lutschtabletten bei den Probanden der Verumgruppe signifikante Verbesserungen aller erhobenen Parameter festgestellt werden (siehe Abb. 15: BoP, Abb. 17: PPD, Abb. 18 CAL, Abb. 19: GI und Abb. 20: PCR zur Entwicklung der Parameter im zeitlichen Studienverlauf). Hierbei fällt auf, dass insbesondere bei den Parametern, die den klinischen Entzündungszustand des Parodonts beschreiben, die größte Regression bereits nach zwei Wochen aufgetreten war (siehe Tab. 2: BoP und Tab. 7: GI zu Unterschieden nach zwei Wochen). Im weiteren Studienverlauf setzt sich die Verbesserung der Bleeding on Probing-Werte und des Gingival-Index bis zur Abschlussuntersuchung weiter fort, allerdings nicht mehr in der zuvor beobachteten Größenordnung (siehe Tab. 3: BoP und Tab. 8: GI zu Unterschieden nach sechs Wochen). Insgesamt profitieren fast alle Probanden der Verumgruppe gleichmäßig von der Verbesserung des Entzündungsgrades der Gingiva (siehe Tab. 9: GI – Veränderungen je Proband). Der Anteil der mäßigen bis starken Entzündungsgrade (Kategorien GI 2 und GI 3) nimmt zu Gunsten einer gering entzündeten oder sogar gesunden Gingiva (Kategorien GI 1 und GI 0) ab (siehe Abb. 19: GI – Häufigkeitsverteilung).

Dieser beobachtete massive Rückgang bei klinischen Parametern parodontaler Entzündung war aufgetreten, ohne dass eine professionelle Zahnreinigung durchgeführt worden war. Weiterhin wurden auch keine professionellen Unter-

stützungen zur Verbesserung der häuslichen Mundhygiene wie z. B. Mundhygieneeinweisungen angeboten. Die Probanden wurden angewiesen, nichts an ihrem diesbezüglichen Verhalten zu ändern. Einzige Ausnahme war in diesem Zusammenhang das Verbot der Anwendung von desinfizierenden Mundspüllösungen.

Somit war die mechanische Entfernung der Plaque, sei es im Rahmen der habituellen Mundhygiene oder auch in Form professioneller Unterstützung, als möglicher Einflussfaktor für die Verbesserung der Sondierungsblutung und der anderen Parameter unserer Studie gleichsam ausgeschlossen. Diese Feststellung lässt sich mit den etablierten Konzepten zur primären Parodontalprophylaxe nicht vollständig in Einklang bringen. Nach wie vor gilt die Entfernung von Bakterien als wichtigstes Element sowohl in der Prophylaxe als auch in der Therapie parodontaler Erkrankungen (siehe 1.1.3 Parodontale Erkrankungen – Prävention und Therapie). Eine möglichst plaquefreie Mundhöhle, die durch optimale häusliche Mundhygiene und individuelle, professionelle Überwachung und Unterstützung erreicht wird, ist das Ziel allgemein anerkannter Prophylaxekonzepte (Lang et al. 1973, Axelsson et al. 2004).

Als weitere wichtige Säule gewinnt die individuelle Änderung des Lebensstils in Richtung Gesundheit in der Prophylaxe von parodontalen Erkrankungen zunehmend an Bedeutung. Die Modulation von Risikofaktoren wie Rauchen, Ernährung und Lebensstil spielt dabei eine zentrale Rolle (Tonetti et al. 2015a/b, Chapple et al. 2015, Sanz et al. 2015). Das Lebensumfeld ist aber für die Probanden unserer Studie mit vielen entscheidenden Faktoren weitgehend festgelegt und individuelle Änderungen sind an Bord von seegehenden Einheiten der Marine gar nicht möglich (siehe 5.1.2 und 5.1.3 Diskussion – Methode – Organisatorische Rahmenbedingungen). Somit können auch in diesem Bereich zentrale Einflussfaktoren für die Erkenntnisse unserer Studie unberücksichtigt bleiben, da sie auf alle Probanden gleichermaßen wirken.

Der Einflussfaktor Rauchen bleibt individuell bestehen und wurde daher in der vorliegenden Studie hinsichtlich seines möglichen Effekts auf die Studienergebnisse analysiert. Unter der Einnahme von *L. reuteri* kam es auch bei Rauchern zu einer signifikanten Abnahme der Sondierungsblutung, die allerdings

im Vergleich zu den Nichtrauchern zeitlich verzögert eintrat (siehe Abb. 16 a-d: BoP – Veränderung Raucher/Nichtraucher). Vor dem Hintergrund kleiner Zahlen in den Subgruppen und hier insbesondere bei nur sechs nichtrauchenden Probanden der Verumgruppe kann dieses Ergebnis nur die Basis für weitere Untersuchungen sein. Wichtig im Zusammenhang mit der Einordnung der Ergebnisse der vorliegenden Studie ist die Feststellung, dass Rauchen im Endeffekt offensichtlich die beobachteten Verbesserungen unserer Studienparameter nicht wesentlich beeinflusste. Das Gleiche gilt für den über die Truppenverpflegung hinausgehenden, zusätzlichen Zuckerkonsum der Probanden. Eine Auswertung ergab diesbezüglich keine signifikanten Unterschiede in der Entwicklung der Studienparameter unter Berücksichtigung des vermehrten Zuckerkonsums (siehe 4.2 Ergebnisse – Bleeding on Probing – Betrachtung weiterer Merkmale). Der Zuckergehalt der Truppenverpflegung liegt durchgängig erheblich über der aktuellen Empfehlung der *WHO* von 25 Gramm Zucker am Tag (*WHO* 2015). Daher liegt die Vermutung nahe, dass der Konsum von noch mehr Zucker, ausgehend von einem ohnehin zu hohen Niveau, kurzfristig keine weiteren negativen Auswirkungen auf die Entwicklung der erhobenen Parameter der parodontalen Gesundheit haben könnte.

Insgesamt ist im Zusammenhang mit der Betrachtung möglicher Einflussfaktoren beachtenswert, dass ungeachtet des allgemein ungesunden Lebensstils der Probanden an Bord gleichwohl in der Verumgruppe ein positiver Effekt auf unsere Studienparameter eingetreten ist. Diese positive Entwicklung der klinischen Parameter der vorliegenden Studie kann demnach nicht vorherrschend auf etablierte Einflussfaktoren zurückzuführen sein, sondern muss in kausalem Zusammenhang mit den Studienlutschtabletten stehen.

Im scheinbaren Gegensatz zu den etablierten Konzepten der Prophylaxe und Therapie von parodontalen Erkrankungen sind in der vorliegenden Studie keine Bakterien entfernt, sondern vielmehr zusätzliche Bakterien als Nahrungsergänzung dazugegeben worden. Vor dem Hintergrund des PSD-Modells als aktuelles wissenschaftliches Verständnis zur Ätiologie parodontaler Erkrankungen (*Hajishengallis/Lamont* 2012) erscheint es naheliegend, dass *L. reuteri* offenbar

die bakterielle Mikrobiota der Mundhöhle so manipuliert hat, dass die beobachteten klinischen Effekte eingetreten sind.

Die dabei beteiligten Wirkmechanismen sind noch nicht in Gänze geklärt und somit in der Literatur bislang noch nicht abschließend beschrieben (siehe 1.2.1 Probiotika – Allgemeine Grundlagen – Wirkung). Es wird in diesem Zusammenhang von unterschiedlichen Wirkprofilen ausgegangen, die sowohl lokal als auch systemisch wirken können. So können Laktobazillen Vorgänge im menschlichen Organismus offenbar im Wesentlichen auf drei unterschiedliche Arten beeinflussen. Sie sind in der Lage die Wirtsabwehr auf vielfältigste Weise zu beeinflussen, sie können antimikrobielle Substanzen produzieren oder ihre Wirkung durch kompetitive Hemmung entfalten (Ölschläger 2010, Teughels et al. 2011). Das Fehlen der umfassenden Kenntnis aller Wirkmechanismen erschwert vielfach die Erklärung von Sachverhalten, die in Studien beobachtet wurden. Unklare Wirkprofile beschränken darüber hinaus die kausale Verknüpfung von Sachverhalten untereinander genauso wie die Übertragung von Ergebnissen.

Literaturvergleich

Die in der vorliegenden Studie beschriebenen Ergebnisse stehen überwiegend im Einklang mit den Feststellungen anderer kontrollierter klinischer Studien, die die Auswirkungen von *L. reuteri* auf klinische Parameter parodontaler Erkrankungen untersucht haben. Diesbezüglich liegen aber auch abweichende Ergebnisse vor (siehe auch 1.2.3 Probiotika – *Lactobacillus reuteri* – klinische Anwendung – parodontale Erkrankungen).

Nachfolgend werden mit einer Ausnahme nur Studien diskutiert, die mit *L. reuteri* DSM 17938 und *L. reuteri* ATCC PTA 5289 die gleiche spezifische Stammkombination eingesetzt hatten, die auch in unserer Studie verwendet wurde. In diesem Zusammenhang wird auch *L. reuteri* ATCC 55730 anstelle seines Tochterstamms *L. reuteri* DSM 17938 mit in die Betrachtung eingeschlossen, da er über identische probiotische Eigenschaften verfügt (Rosander et al. 2008). Krasse et al. haben jeweils einen der beiden Stämme isoliert in separaten experimentellen Gruppen angewendet. Daher wird diese Studie

nachfolgend auch im Vergleich betrachtet, obwohl nicht die Kombination beider Stämme verwendet wurde.

Bei postulierter stammspezifischer Wirkung von Probiotika (siehe 1.2.1 Probiotika – Allgemeine Grundlagen – Wirkung) soll diese Selektion sicherstellen, dass beobachtete Effekte nicht unbeabsichtigt inkorrekten Ursachen zugeordnet und infolgedessen konsequente aber möglicherweise unerlaubte Schlüsse gezogen werden, die die Evidenz manipulieren. Gleiches gilt für Studien, die *L. reuteri* zwar im Zusammenhang mit parodontalen Erkrankungen einsetzen, ähnliche klinische Parameter erheben, aber grundlegend andere Sachverhalte beleuchten, wie z. B. den Einsatz als adjunktes Therapeutikum im Rahmen der nicht-chirurgischen Parodontaltherapie oder die Wirkung auf periimplantäre Entzündungen. Die überwiegend positiven Feststellungen dieser Studien sind bereits in der Einleitung zusammengefasst (siehe 1.2.3 Probiotika/*Lactobacillus reuteri* – klinische Anwendung – parodontale Erkrankungen). Sie werden aus den gerade beschriebenen Gründen zur Vermeidung eines Bias ebenfalls nicht zur vergleichenden Diskussion herangezogen.

Klinische *L. reuteri*-Studien mit abweichenden Beobachtungen

Im Gegensatz zu den Befunden unserer Studie konnten *Iniesta* et al. unter der Einnahme von *L. reuteri*-haltigen Kautabletten keine klinischen Veränderungen von Plaque- und Gingival-Index beobachten. Gleichwohl wurde eine Dezimierung bestimmter parodontalpathogener Keime beschrieben, die eine Verbesserung der klinischen Situation hätte erwarten lassen. Die Autoren selber führten das Ausbleiben einer klinischen Veränderung innerhalb und zwischen den experimentellen Gruppen u. a. auf ihre Probandenpopulation zurück. Der hohe Mundhygienestandard der untersuchten, mehrheitlich weiblichen Zahnmedizinstudenten hätte eine weitere Verbesserung an sich nur schwer zugelassen, so dass signifikante Veränderungen in der Folge auch nicht hätten festgestellt werden können (*Iniesta* et al. 2012).

In einer weiteren Studie konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der Entwicklung des Gingival-Index, des Plaque-Index und der Sondierungsblutung bei Einnahme von *L. reuteri*-haltigen Lutschtabletten beobachtet werden

(Hallström et al. 2013). Mögliche Erklärungen für diese im Vergleich zu den Ergebnissen unserer Studie scheinbar entgegengesetzten Feststellungen könnten auch hier in der Auswahl der Probanden zu finden sein oder überdies aus dem Charakter der untersuchten Erkrankung abgeleitet werden. Das bei Hallström et al. betrachtete Modell der experimentellen Gingivitis lässt sich in Bezug auf klinische und immunologische Parameter nicht ohne weiteres mit einer etablierten chronischen Gingivitis als Betrachtungsgegenstand unserer und der übrigen Studien vergleichen (Deinzer et al. 2007). Weiterhin hatten Hallström et al. ausschließlich weibliche, nicht rauchende Studienteilnehmer eingeschlossen, die alle aus den Mitarbeitern der Mund-, Kiefer-, Gesichtschirurgischen Abteilung der die Studie durchführenden Klinik rekrutiert worden waren. Schon aufgrund dieses beruflichen Zusammenhangs und der entsprechenden Erfahrung ergab sich hier eine sehr spezielle Personengruppe, bei der eine hohe Motivation und gute Kenntnisse und Fertigkeiten hinsichtlich der individuellen Mundhygiene vorausgesetzt werden konnten. Ferner durchliefen die Probanden im Rahmen der Studie wiederholt Intervalle ohne Mundhygiene, die von intensiver professioneller Zahnreinigung abgelöst wurden. In unserer Studie wurden demgegenüber ausdrücklich „fachfremde“ Probanden untersucht und es erfolgte, wie bereits im Rahmen der Methodenkritik ausführlich erörtert, bewusst keine professionelle Zahnreinigung und keine Mundhygieneinstruktionen.

Auch Sinkiewicz et al. untersuchten den Einfluss einer Nahrungsergänzung mit *L. reuteri*-haltigem Kaugummi auf die Mundflora und konnten im zwölfwöchigen Beobachtungszeitraum keine wesentlichen Veränderungen der betrachteten Parameter Bleeding on Probing, Probing Pocket Depth und Gingival-Index feststellen. Damit übereinstimmend konnte mikrobiologisch auch keine signifikante probiotische Wirkung gefunden werden, obwohl es eine Tendenz zu einer gesünderen Mikrobiota in der *L. reuteri* Gruppe gab. Allerdings kam es im Interventionszeitraum zu einer signifikanten Zunahme des Plaque-Index in der Placebogruppe, während keine signifikante Veränderung bei der Testgruppe zu verzeichnen war. Diesen Befund erklärten die Autoren selbst mit einer Hemmung der Plaquebildung durch die Einnahme der probiotischen Kaugummis (Sinkiewicz et al. 2010). Diese Vermutung würde dann mit unseren Ergebnissen

übereinstimmen. Die Beständigkeit der übrigen klinischen Parameter ist aber zunächst schwer mit den Ergebnissen unserer Studie zu verbinden. Diese Unterschiede könnten durchaus auf die ausgewählten Probanden zurückzuführen sein, die Parallelen zu den von *Hallström* et al. untersuchten Probanden zeigen. An der Studie von *Sinkiewicz* et al. nahmen 23 gesunde, nicht rauchende, überwiegend weibliche Freiwillige aus dem lokalen universitären Umfeld teil, die aber nicht direkt aus der zahnmedizinischen Fakultät kamen. Mögliche Auswirkungen im Zusammenhang sind mit der Studie von *Hallström* et al. aus dem Jahr 2013 bereits vorangehend beschrieben.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass alle drei vorstehend beschriebenen Studien abweichend von unseren Ergebnissen keine signifikanten klinischen Veränderungen im Zusammenhang mit dem Konsum von *L. reuteri* zeigen konnten. Bei zwei dieser drei Studien steht diese klinische Beobachtung nicht im Einklang mit den mikrobiologischen Befunden. Allen drei Studien gemeinsam ist eine ausgesuchte Probandenklientel aus dem zahnärztlich-universitären Umfeld mit den beschriebenen glaubhaften Einflussgrößen, die einen kausalen Zusammenhang folgerichtig erscheinen lassen.

Klinische *L. reuteri*-Studien mit übereinstimmenden Beobachtungen

Krasse et al. konnten bereits vor über zehn Jahren bei Patienten mit moderater oder schwerer Gingivitis, die über einen Zeitraum von zwei Wochen *L. reuteri*-haltiges Kaugummi konsumiert hatten, eine effektive Reduzierung von Zahnfleischbluten und Plaque nachweisen. In dieser Studie wurden die beiden in unserer Studie als Kombination eingesetzten *L. reuteri*-Stämme jeweils einzeln in separaten experimentellen Gruppen angewendet und mit einer Placebogruppe verglichen. Die Details zu den in dieser Studie verwendeten *L. reuteri*-Stämmen sind nicht der entsprechenden Veröffentlichung zu entnehmen, aber in der Dissertation von *Sinkiewicz* entsprechend dokumentiert (*Sinkiewicz* 2010). Die 59 Probanden dieser Studie wurden aus Klinikpatienten rekrutiert, die sich dort zur jährlichen Kontrolle vorstellten. Nach der Studieneingangsuntersuchung wurden bei allen Probanden im Rahmen der Klinikroutine eine professionelle Zahnreinigung und eine Mundhygieneinweisung durchgeführt. Beide *L. reuteri*-

Gruppen zeigten nach 14 Tagen eine signifikante Reduzierung des Plaque-Index, während die Werte in der Placebogruppe annähernd gleichblieben. Der Gingival-Index verbesserte sich signifikant in allen drei Gruppen im Vergleich zum jeweiligen Ausgangswert. In einer der beiden *L. reuteri*-Gruppen war die Verbesserung nach 14 Tagen im Vergleich zur Placebogruppe signifikant. Weiterhin wurde die Kolonisation der beiden *L. reuteri*-Stämme im Speichel bei 65% bzw. bei 95% der Probanden gemessen (Krasse et al. 2006).

Im Grundsatz bestätigt unsere Studie diese Ergebnisse, wenngleich bei Krasse et al. eine Wirkung durch professionelle Einflussnahme auf die Ergebnisse nicht auszuschließen ist. Diese Tatsache diskutieren die Autoren der Studie selber, die den therapeutischen Effekt einer professionellen Zahnreinigung bei der Behandlung einer Gingivitis im Zeitraum von wenigen Tagen bis drei Wochen ansiedeln, bevor Plaque und Gingivitis beginnen würden, sich wieder zu entwickeln. Die professionelle Zahnreinigung spiegelt sich also wahrscheinlich noch durch fortbestehende Verbesserung der gingivalen Entzündung in den Ergebnissen der Abschlussuntersuchung aller experimentellen Gruppen nach zwei Wochen wider. Darauf basierend reduziert sich die gingivale Entzündung in einer der beiden *L. reuteri*-Gruppen aber nochmal signifikant im Vergleich zur Placebogruppe. Dieser Mutmaßung folgend würde ohne professionelle Zahnreinigung ein erheblich größerer Unterschied im Vergleich der Verum- mit der Placebogruppe zu erwarten sein. In Verbindung mit den Ergebnissen unserer Studie stellt sich in diesem Zusammenhang die Frage, ob ohne Zahnreinigung nicht nur der Unterschied zwischen den Gruppen, sondern auch der mutmaßlich durch *L. reuteri* verursachte Entzündungsrückgang vielleicht größer wäre.

Auch Twetman et al. verzeichneten unter der Verwendung von *L. reuteri*-haltigen Kaugummis einen Rückgang der klinischen Entzündungszeichen. Nach zwei Wochen reduzierte sich die Sondierungsblutung der Patienten ihrer Studie signifikant. Im weiteren Studienverlauf nach vier Wochen war dieser signifikante Rückgang der Bleeding on Probing-Werte zwar nicht mehr in diesem Maße zu verzeichnen, in Ergänzung konnte in dieser Studie aber eine deutliche Verminderung des Sulkusfluid bei gleichzeitiger Abnahme spezifischer Entzündungsmediatoren beobachtet werden (Twetman et al. 2009).

Signifikante klinische Verbesserungen von Sondierungstiefen, Plaque-Index und Sondierungsbluten konnten auch bei Patienten mit leichter bis mittelschwerer Parodontitis nach vier Wochen Einnahme von *L. reuteri*-haltigen Lutschtabletten festgestellt werden (Vicario et al. 2013). Im Vergleich zur vorliegenden Studie konnten Vicario et al. bei Verwendung des gleichen dichotomen Index eine noch deutlichere Abnahme der plaquebedeckten Flächen feststellen, dafür stellte sich die Reduktion der BoP-Werte in unserer Studie ausgeprägter dar. Die Veränderung bei den ebenfalls gemessenen Sondierungstiefen wird bei Vicario et al. als relativer Anteil von 4 bis 5 mm tiefen Taschen und Taschen ≥ 6 mm angegeben und ist somit nicht direkt mit der bei uns gewählten Darstellung der mittleren absoluten Taschentiefe zu vergleichen, in der Tendenz aber gleichartig. Insgesamt stimmen die Ergebnisse unserer Studie mit den sehr ähnlichen von Vicario et al. überein.

In einer weiteren Studie beobachteten Schlagenhauf et al. in einem Studienzeitraum von sieben Wochen eine erhebliche Reduzierung von Gingival-Index und Plaque-Index bei Schwangeren mit Gingivitis in Verbindung mit dem Konsum *L. reuteri*-haltiger Lutschtabletten (Schlagenhauf et al. 2016b). Die Ergebnisse dieser Studie sind, trotz der zweifellos anderen Probandenpopulation, im Grundsatz mit denen unserer Studie konsistent.

Im Detail zeigte sich in dieser Studie im Vergleich zur vorliegenden eine noch erheblich deutlichere Reduktion der Plaque, was möglicherweise im Zusammenhang mit der Wahl der ungleichen Plaque-Indizes stehen könnte (siehe hierzu auch 5.1.6 Diskussion – Methode – Klinische Datenerhebung – Plaque Control Record). Der bei Schlagenhauf et al. verwendete Plaque-Index nach Silness und Løe 1964 wird in vier Graden erhoben, was eine größere Genauigkeit bei der Beurteilung zulässt, als der bei uns verwendete Plaque Control Record nach O'Leary 1972, der dichotom nur Plaque/keine Plaque aufzeichnet und somit Verbesserungen nur dann erfasst, wenn sie im Ergebnis zur völligen Plaquefreiheit geführt haben. Bei Schlagenhauf et al. wurden aber nur bukkale Flächen beurteilt, wohingegen in der vorliegenden Studie Plaque sowohl bukkal als auch oral erfasst wurde. Diese Gegebenheiten lassen Raum für systematische Über- oder Unterschätzung der Plaquebedeckung in ihrer

Gesamtheit und schränken somit die Vergleichbarkeit der Studienergebnisse untereinander ein. Für die Gesamtbeurteilung spielt das jedoch nur eine untergeordnete Rolle.

Im Vergleich mit allen anderen beschriebenen Studien stellen sich die vorliegenden Ergebnisse unserer Studie in Bezug auf den Unterschied zwischen Verum- und Placebogruppe umfänglicher dar. In unserer Studie ergänzt sich die entgegengesetzte Wirkungsrichtung der Veränderungen in den beiden experimentellen Gruppen zu einem umso größeren Unterschied zwischen den Gruppen.

5.3 Schlussfolgerung

Die für die vorliegende Studie gewählte Methode war in Kombination mit der besonderen Probandenklientel, deren einheitlichen Lebensbedingungen und den entsprechend kontrollierten Studienbedingungen, offenkundig grundsätzlich geeignet, einen kausalen Zusammenhang zwischen der Einnahme der *L. reuteri*-haltigen Studienlutschtabletten und der Absenz der einsatzbedingten Verschlechterung der oralen Gesundheit von Soldaten herzustellen. Darüber hinaus konnte sogar eine signifikante Verbesserung aller erhobenen klinischen Parameter bei den Probanden der Verumgruppe beobachtet werden. Die analysierten Daten unserer Studie erlauben die begründete Ableitung, dass die Studienlutschtabletten zur effektiven Parodontalprophylaxe bei Soldaten im Einsatz oder unter einsatzgleichen Bedingungen zeitlich begrenzt eingesetzt werden könnten.

Alle bisher eingeleiteten Maßnahmen basierten auf etablierten Prophylaxekonzepten und waren offenbar nur begrenzt geeignet, dem einsatzbedingten Defizit in der Mundgesundheit von Soldaten entgegenzuwirken. Die vorliegende Studie eröffnet mit *L. reuteri* eine erfolgversprechende und praktikable Möglichkeit, die ohne professionelle zahnärztliche Vorbereitung und/oder Begleitung durch die Soldaten selbst angewendet werden kann. Nebenwirkungen von *L. reuteri* sind nicht bekannt und die Ergebnisse unserer Studie wurden darüber hinaus unter real existierenden Verhältnissen ohne aktive Beeinflussung der individuellen Mundhygiene oder Änderung der Lebensweise, der Ernährung, des Stresslevels oder des Rauchverhaltens erreicht. Es müssen also offensichtlich keine bestimmten Voraussetzungen für eine erfolgreiche Anwendung erfüllt werden, was den Einsatz der Lutschtabletten umfassend und alltagstauglich macht.

Die Übertragung der Ergebnisse der vorliegenden Studie für generelle Folgerungen hinsichtlich der Verabreichung von *L. reuteri*-haltigen Nahrungsergänzungsmitteln im Rahmen der Prävention von Parodontalerkrankungen kann aber durch die begrenzte Probandenzahl und insbesondere durch die besonderen Studienbedingungen in ihrer allgemeinen Gültigkeit beeinträchtigt sein. Die in unserer Studie existenten, den Eigentümlichkeiten der Marine

geschuldeten, kontrollierten Lebensbedingungen der Probanden lassen einerseits den Schluss zu, dass der beobachtete Effekt höchstwahrscheinlich überwiegend auf *L. reuteri* zurückzuführen ist, da viele der Risikofaktoren, die parodontale Erkrankungen opportunistisch modellieren, entweder auf alle Probanden homogen eingewirkt haben oder aber separat dokumentiert und analysiert worden sind. Dieses kann aber andererseits, speziell vor dem Hintergrund der unklaren Wirkmechanismen von *L. reuteri*, eine unkalkulierbare systematische Variable in der Übertragung der Ergebnisse auf andere Personen unter anderen Rahmen- und Lebensbedingungen sein.

Inwieweit die Ergebnisse unserer Studie also generell in den Bereich der Parodontalprophylaxe übertragbar sind, muss in zukünftigen Studien genauso geklärt werden wie die Auswirkungen einer langfristigen Intervention mit *L. reuteri* auf die orale Gesundheit. Es stellt sich in diesem Zusammenhang die häretische Frage, ob eine dauerhafte Einnahme von *L. reuteri* eine insuffiziente häusliche Mundhygiene möglicherweise partiell kompensieren und/oder eine gesunde Ernährung und Lebensweise in Bezug auf die parodontale Gesundheit teilweise ersetzen könnte und inwieweit in der Folge etablierte Konzepte in diesem Zusammenhang angepasst werden müssten.

Darüber hinaus sind nach wie vor, wie bereits angesprochen, die genauen Wirkmechanismen von *L. reuteri* noch nicht abschließend geklärt. Hier bedarf es weiterer klinischer, mikrobiologischer und vor allem immunologischer Untersuchungen zu einer genaueren Profilierung der Wirkungsweise. In diesem Zusammenhang wäre auch die Aus- und Bewertung der im Rahmen der Untersuchungen für diese Studie zusätzlich zur klinischen Datenerhebung ebenfalls gewonnenen mikrobiologischen Proben von Speichel, Plaque, parodontaler Tasche und Stuhl möglicherweise ein wichtiger, weiterer Erkenntnisgewinn.

6 Zusammenfassung

Die Hemmwirkung des regelmäßigen Konsums probiotischer *Lactobacillus reuteri*-Stämme auf die Ausprägung oraler Entzündungen ist mittlerweile durch eine ganze Reihe klinischer Interventionsstudien gut belegt. Die allgemeinen Lebensumstände der untersuchten Probanden waren dabei jedoch in der Regel wenig standardisiert, so dass eine mögliche Beeinträchtigung der Validität der Studiendaten durch nicht kontrollierte externe Faktoren wie etwa Lebensstil oder Ernährung bislang nicht ausgeschlossen werden konnte. Daher war es das Ziel dieser prospektiven, randomisierten, doppelt verblindeten und placebo-kontrollierten Interventionsstudie über einen Beobachtungszeitraum von sechs Wochen die Auswirkungen des täglichen Konsums probiotischer, *L. reuteri*-haltiger Lutschtabletten auf Parameter der oralen Gesundheit von 72 Besatzungsmitgliedern einer Fregatte der Deutschen Marine zu evaluieren, die während einer Einsatzvorbereitung in See unter weitgehend vergleichbaren Lebens- und Ernährungsbedingungen ihren Dienst versahen.

Zu Studienbeginn, sowie nach zwei und sechs Wochen wurden an den Ramfjordzähnen (Zähne 16, 21, 24, 36, 41, 44) der Probanden die Anzahl der auf Sondierung blutenden Zahnfleischtaschen (BoP) als primärem Studienendpunkt erfasst. Darüber hinaus wurden als sekundäre Endpunkte die Taschensondierungstiefe (PPD), das klinische Attachmentniveau (CAL), der Gingival-Index (GI) und der Plaque Control Record (PCR) aufgezeichnet. Mit Hilfe einer doppelt verblindeten Zuteilungsstrategie wurden die Probanden zufällig der *L. reuteri*-Gruppe (n=36) oder der Placebogruppe (n=36) zugeordnet. Sie erhielten nachfolgend einen für die Studiendauer ausreichenden Vorrat an *L. reuteri*- oder Placebo-Lutschtabletten mit der Anweisung, diese in den nächsten sechs Wochen zweimal täglich zu konsumieren.

30 Probanden der *L. reuteri*-Gruppe sowie 32 Probanden der Placebogruppe beendeten die Studie mit vollständig erfassten Datensätzen. Ihre Analyse enthüllte für die *L. reuteri*-Gruppe einen signifikanten ($p < 0,001$) Rückgang der beobachteten BoP-Mittelwerte von initial 41% (± 22 SD) aller erfassten Messstellen auf 10% (± 13 SD) nach sechs Wochen. In der Placebogruppe hingegen

kam es während des Beobachtungszeitraums zu einer signifikanten ($p=0.05$) Zunahme der BoP-Mittelwerte gegenüber der Ausgangssituation von initial 37 % (± 20 SD) auf 43 % (± 17 SD) am Studienende. Auch bezüglich aller sekundären Endpunkte (PPD, CAL, GI, PCR) konnte in der *L. reuteri*-Gruppe eine signifikante Verbesserung der oralen Gesundheit zwischen Studienbeginn und Studienende beobachtet werden, während sich wiederum in der Placebo-Gruppe im Beobachtungszeitraum eine statistisch verifizierbare Verschlechterung aller erfassten sekundären Endpunkte ergab. Die Ergebnisse dieser unter weitgehend kontrollierten Lebens- und Ernährungsbedingungen durchgeführten Untersuchung belegen, dass der regelmäßige Konsum probiotischer, *L. reuteri*-haltiger Lutschtabletten unter den Einsatzbedingungen in See nicht nur eine in der Placebogruppe beobachtete Verschlechterung der oralen Gesundheit verhinderte, sondern diese vielmehr im Vergleich zum Ausgangsbefund signifikant verbesserte.

Der adjunktive Konsum *L. reuteri*-haltiger Lutschtabletten könnte daher eine kostengünstige und einfach zu implementierende Maßnahme darstellen, um einer unter militärischen Einsatzbedingungen häufiger zu beobachtenden Verschlechterung der oralen Gesundheit wirksam vorzubeugen.

7 Literaturverzeichnis

- Abrahamsson TR, Jakobsson T, Böttcher MF, Fredrikson M, Jenmalm MC, Björkstén B, Oldaeus G.
Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 May;119(5):1174-80.
- Adams MR, Marteau P.
On the safety of lactic acid bacteria from food. *Int J Food Microbiol*. 1995 Oct;27(2-3):263-4.
- Adler CJ, Dobney K, Weyrich LS, Kaidonis J, Walker AW, Haak W, Bradshaw CJ, Townsend G, Sołtysiak A, Alt KW, Parkhill J, Cooper A.
Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and Industrial revolutions. *Nature genetics*. 2013;45(4):450-455.
- Ainamo J, Barmes D, Beagrie G, Cutress T, Martin J, Sardo-Infirri J.
Development of the World Health Organization (WHO) community periodontal index of treatment needs (CPITN). *Int Dent J*. 1982 Sep;32(3):281-91.
- Albandar JM.
Epidemiology and risk factors of periodontal diseases. *Dent Clin North Am*. 2005 Jul;49(3):517-32.
- Albandar JM, Rams TE.
Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. *Periodontol 2000*. 2002;29:7-10.
- Alexander KL, Targan SR, Elson CO 3rd.
Microbiota activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Immunol Rev*. 2014 Jul;260(1):206-20.
- AlFaleh K, Anabrees J.
Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Evid Based Child Health*. 2014 Sep;9(3):584-671.
- Allaker RP, Ian Douglas C.
Non-conventional therapeutics for oral infections. *Virulence*. 2015;6(3):196-207.
- Anabrees J, Indrio F, Paes B, AlFaleh K.
Probiotics for infantile colic: a systematic review. *BMC Pediatrics*. 2013;13:186.
- Axelsson LT, Chung TC, Dobrogosz WJ, Lindgren SE.
Production of a Broad Spectrum Antimicrobial Substance by *Lactobacillus reuteri*. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 1989;2(2):131-136

- Axelsson P, Lindhe J.
Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol*. 1978 May;5(2):133-51.
- Axelsson P, Lindhe J.
Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. Results after 6 years. *J Clin Periodontol*. 1981a Jun;8(3):239-48.
- Axelsson P, Lindhe J.
The significance of maintenance care in the treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1981b Aug;8(4):281-94.
- Axelsson P, Lindhe J, Nyström B.
On the prevention of caries and periodontal disease. Results of a 15-year longitudinal study in adults. *J Clin Periodontol*. 1991 Mar;18(3):182-9.
- Axelsson P, Nyström B, Lindhe J.
The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004;31(9):749-57
- Baker PJ, Dixon M, Evans RT, Roopenian DC.
Heterogeneity of *Porphyromonas gingivalis* strains in the induction of alveolar bone loss in mice. *Oral Microbiol Immunol*. 2000a Feb;15(1):27-32.
- Baker PJ, Dixon M, Roopenian DC.
Genetic Control of Susceptibility to *Porphyromonas gingivalis*-Induced Alveolar Bone Loss in Mice. Clements JD, ed. *Infection and Immunity*. 2000b;68(10):5864-5868.
- Bartold PM, Van Dyke TE.
Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontol 2000*. 2013 Jun;62(1):203-17.
- Baumgartner S, Imfeld T, Schicht O, Rath C, Persson RE, Persson GR.
The impact of the stone age diet on gingival conditions in the absence of oral hygiene. *J Periodontol*. 2009 May;80(5):759-68.
- Bernardeau M, Guguen M, Vernoux JP.
Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. *FEMS Microbiol Rev*. 2006;30(4):487-513.
- Bochenek G, Häsler R, El Mokhtari NE, König IR, Loos BG, Jepsen S, Rosenstiel P, Schreiber S, Schaefer AS.
The large non-coding RNA ANRIL, which is associated with atherosclerosis, periodontitis and several forms of cancer, regulates ADIPOR1, VAMP3 and C11ORF10. *Hum Mol Genet*. 2013;22(22):4516-4527.

- Böhm SK, Kruis W.
Probiotics: Do they help to control intestinal inflammation? *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006 Aug;1072:339-350.
- Bonifait L, Chandad F, Grenier D.
Probiotics for oral health: myth or reality? *J Can Dent Assoc*. 2009 Oct;75(8):585-90.
- Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, Marteau P, Schrezenmeir J, Vaara M, Valtonen V.
Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis*. 2003;36(6): 775-780.
- Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang MLK.
Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr*. 2006 Jun;83(6):1256-1264
- Brex MC, Fröhlicher I, Gehr P, Lang NP.
Stereological observations on long-term experimental gingivitis in man. *J Clin Periodontol*. 1988 Nov;15(10):621-7.
- Brozio V, Caspar G, Spranger H.
Epidemiologische Untersuchung an Soldaten der Deutschen Bundeswehr und einer dem Alter nach vergleichbarer Studentengruppe (Mundhygiene- und Parodontalbefunde). *Dtsch Zahnärztl Z*. 1982;37:461-464
- Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV)
Abschlussbericht der Arbeitsgruppe "Probiotische Mikroorganismenkulturen in Lebensmitteln" am BgVV. 1999
- Bundesministerium der Verteidigung (BMVg)
Zahnärztliche Behandlung von Soldatinnen und Soldaten der Bundeswehr. *BMVg FüSK II 7 - Zentralerlass B-860/13*. 2009
- Butterbrodt T.
Orales Gesundheitsverhalten, Parodontalzustand und Effizienz der persönlichen Plaquebeseitigung bei 29-45-jährigen Soldaten der Bundeswehr in den TSK Heer, Luftwaffe und Marine. *Göttingen:Med.Diss*. 1998.
- Cagetti MG, Mastroberardino S, Milia E, Cocco F, Lingström P, Campus G.
The Use of Probiotic Strains in Caries Prevention: A Systematic Review. *Nutrients*. 2013;5(7):2530-2550.
- Çaglar E, Cildir SK, Ergeneli S, Sandalli N, Twetman S.
Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 by straws or tablets. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2006 Oct; 64(5):314-8.

Caglar E, Kavaloglu SC, Kuscu OO, Sandalli N, Holgerson PL, Twetman S. Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Clin Oral Investig*. 2007 Dec;11(4):425-9.

Caglar E, Kuscu OO, Cildir SK, Kuvvetli SS, Sandalli N. A probiotic lozenge administered medical device and its effect on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Int J Paediatr Dent*. 2008 Jan;18(1):35-9.

Capozzi V, Russo P, Duenas MT, Lopez P, Spano G. Lactic acid bacteria producing B-group vitamins: a great potential for functional cereals products. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2012; 96: 1383-1394.

Casas IA, Dobrogosz WJ. Validation of the Probiotic Concept: *Lactobacillus reuteri* Confers Broad-spectrum Protection against Disease in Humans and Animals. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2000;12(4):247-285.

Chapple IL, Genco R., working group 2 of the joint EFP/AAP workshop. Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol*. 2013 Apr;84(4):S106-12.

Chapple IL, Milward MR, Ling-Mountford N, et al. Adjunctive daily supplementation with encapsulated fruit, vegetable and berry juice powder concentrates and clinical periodontal outcomes: a double-blind RCT. *Journal of Clinical Periodontology*. 2012;39(1):62-72.

Chapple IL, Van der Weijden F, Doerfer C, Herrera D, Shapira L, Polak D, Madianos P, Louropoulou A, Machtei E, Donos N, Greenwell H, Van Winkelhoff AJ, Eren Kuru B, Arweiler N, Teughels W, Aimetti M, Molina A, Montero E, Graziani F. Primary prevention of periodontitis: managing gingivitis. *J Clin Periodontol*. 2015 Apr;42(16):71-6.

Cleusix V, Lacroix C, Vollenweider S, Le Blay G. Glycerol induces reuterin production and decreases *Escherichia coli* population in an in vitro model of colonic fermentation with immobilized human feces. *FEMS Microbiol Ecol*. 2008 Jan;63(1):56-64.

Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *J Clin Periodontol*. 2002 May;29(2):6-16.

D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ. Probiotics in prevention of antibiotic associated diarrhoea: meta-analysis. *BMJ: British Medical Journal*. 2002;324(7350):1361.

- Darveau RP.
Bacteria modulate host-cell responses by capitalizing on the lipid raft structure. *Future Microbiol.* 2009a Mar;4(2):155-7.
- Darveau RP.
The oral microbial consortium's interaction with the periodontal innate defense system. *DNA Cell Biol.* 2009b Aug;28(8):389-95.
- Darveau RP, Hajishengallis G, Curtis MA.
Porphyromonas gingivalis as a potential community activist for disease. *Journal of Dental Research.* 2012;91(9):816-820.
- Davé S, Van Dyke T.
The link between periodontal disease and cardiovascular disease is probably inflammation. *Oral Dis.* 2008 Mar;14(2):95-101.
- Deinzer R., Weik U., Kolb-Bachofen V, Herforth A.
Comparison of experimental gingivitis with persistent gingivitis: differences in clinical parameters and cytokine concentrations. *Journal of Periodontal Research.* 2007;42:318–324.
- Demmer R, Papapanou PN.
Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology* 2000. 2010;53:28-44.
- De Vrese M, Schrezenmeir J.
Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2008;111:1-66.
- Devine DA, Marsh PD.
Prospects for the development of probiotics and prebiotics for oral applications. *Journal of Oral Microbiology.* 2009;1:10.3402.
- Dietrich T, Bernimoulin JP, Glynn RJ.
The effect of cigarette smoking on gingival bleeding. *J.Periodontol.* 2004;75:16–22
- Eberhard J, Jepsen S, Jervøe-Storm PM, Needleman I, Worthington HV.
Full-mouth treatment modalities (within 24 hours) for chronic periodontitis in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015 Apr 17;(4):CD004622.
- Eberhard J, Jervøe-Storm PM, Needleman I, Worthington H, Jepsen S.
Full-mouth treatment concepts for chronic periodontitis: a systematic review. *J Clin Periodontol.* 2008 Jul;35(7):591-604.
- Eke PI, Dye BA, Wei L, et al.
Update on Prevalence of Periodontitis in Adults in the United States: NHANES 2009 – 2012. *Journal of periodontology.* 2015;86(5):611-622.

Ericson D, Hamberg K, Bratthall G, Sinkiewicz-Enggren G, Ljunggren L. Salivary IgA response to probiotic bacteria and mutans streptococci after the use of chewing gum containing *Lactobacillus reuteri*. *Pathog Dis*. 2013 Aug;68(3):82-7.

Ericsson I, Lindhe J. Probing depth at Implants and Teeth. *J Clin Periodontology*. 1993;20(9):263-269

FAO/WHO

Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. *Report of a Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*. 2002:

http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf

Fleiss JL, Park MH, Chilton NW, Alman JE, Feldman RS, Chauncey HH. Representativeness of the "Ramfjord teeth" for epidemiologic studies of gingivitis and periodontitis. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1987;15:221-4

Flichy-Fernández AJ, Ata-Ali J, Alegre-Domingo T, Candel-Martí E, Ata-Ali F, Palacio JR, Peñarrocha-Diago M.

The effect of orally administered probiotic *Lactobacillus reuteri*-containing tablets in peri-implant mucositis: a double-blind randomized controlled trial. *J Periodontol Res*. 2015 Dec;50(6):775-85.

Fooks LJ, Gibson GR.

Probiotics as modulators of the gut flora. *Br J Nutr*. 2002 Sep;88(1):39-49.

Forsberg A, Abrahamsson TR, Björkstén B, Jenmalm MC.

Pre- and post-natal *Lactobacillus reuteri* supplementation decreases allergen responsiveness in infancy. *Clin Exp Allergy*. 2013 Apr;43(4):434-42.

Forsberg A, Abrahamsson TR, Björkstén B, Jenmalm MC.

Pre- and postnatal administration of *Lactobacillus reuteri* decreases TLR2 responses in infants. *Clin Transl Allergy*. 2014 Jun 25;4:21.

Frese SA, Benson AK, Tannock GW et al.

The evolution of host specialization in the vertebrate gut symbiont *Lactobacillus reuteri*. Guttman DS, ed. *PLoS Genetics*. 2011;7(2):e1001314.

Fuller R.

Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol*. 1989 May;66(5):365-78.

Gänzle MG, Hölzel A, Walter J, Jung G, Hammes WP.

Characterization of Reutericyclin Produced by *Lactobacillus reuteri* LTH2584. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000;66(10):4325-4333.

- Genco, RJ, Borgnakke WS.
Risk factors for periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2013;62:59–94.
- Gerez CL, Cuezco S, Rollán G, Font de Valdez G.
Lactobacillus reuteri CRL 1100 as starter culture for wheat dough fermentation. *Food Microbiol*. 2008 Apr;25(2):253-259.
- Gibson GR, Roberfroid MB.
Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *J. Nutr*. 1995; 125(6): 1401-1412
- Gjermeo P, Rösing CK, Susin C, Oppermann R.
Periodontal diseases in Central and South America. *Periodontol 2000*. 2002;29:70-8.
- Goyal S, Gupta G, Thomas B, Bhat KM, Bhat GS.
Stress and periodontal disease: The link and logic!! *Industrial Psychiatry Journal*. 2013;22(1):4-11.
- Grossi SG, Genco RJ.
Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol*. 1998 Jul;3(1):51-61.
- Guerrero A, Griffiths GS, Nibali L, Suvan J, Moles DR, Laurell L, Tonetti MS.
Adjunctive benefits of systemic amoxicillin and metronidazole in non-surgical treatment of generalized aggressive periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2005 Oct;32(10):1096-107.
- Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC.
Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Ann Periodontol*. 2003 Dec;8(1):115-81.
- Hajishengallis G.
Immuno-microbial pathogenesis of periodontitis: Keystones, pathobionts, and the host response. *Trends in immunology*. 2014a;35(1):3-11.
- Hajishengallis G.
The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. *Molecular oral microbiology*. 2014b;29(6):248-257.
- Hajishengallis G.
Aging and its Impact on Innate Immunity and Inflammation: Implications for Periodontiti. *J Oral Biosci*. 2014c;56(1):30–37.
- Hajishengallis G, Chavakis T, Hajishengallis E, Lambris JD.
Neutrophil homeostasis and inflammation: novel paradigms from studying periodontitis. *Journal of Leukocyte Biology*. 2015;98(4):539-548.

- Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA.
The Keystone Pathogen Hypothesis. *Nature reviews Microbiology*. 2012;10(10):717-725.
- Hajishengallis G, Lambris JD.
Microbial manipulation of receptor crosstalk in innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2011 Mar;11(3):187-200.
- Hajishengallis G, Lamont RJ.
Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Molecular oral microbiology*. 2012;27(6):409-419.
- Hajishengallis G, Lamont RJ.
Breaking bad: Manipulation of the host response by *Porphyromonas gingivalis*. *European journal of immunology*. 2014;44(2):328-338.
- Hajishengallis G, Moutsopoulos NM.
Etiology of leukocyte adhesion deficiency-associated periodontitis revisited: Not a raging infection but a raging inflammatory response. Expert review of clinical immunology. 2014;10(8):973-975.
- Hallström H, Lindgren S, Widén C, Renvert S, Twetman S.
Probiotic supplements and debridement of peri-implant mucositis: a randomized controlled trial. *Acta Odontol Scand*. 2016;74(1):60-6.
- Hallström H, Lindgren S, Yucel-Lindberg T, Dahlén G, Renvert S, Twetman S.
Effect of probiotic lozenges on inflammatory reactions and oral biofilm during experimental gingivitis. *Acta Odontol Scand*. 2013 May-Jul;71(3-4):828-33.
- Harks I, Koch R, Eickholz P, Hoffmann T, Kim TS, Kocher T, Meyle J, Kaner D, Schlagenhauf U, Doering S, Holtfreter B, Gravemeier M, Harmsen D, Ehmke B.
Is progression of periodontitis relevantly influenced by systemic antibiotics? A clinical randomized trial. *J Clin Periodontol*. 2015 Sep;42(9):832-42.
- Harper DS, Robinson PJ.
Correlation of histometric, microbial, and clinical indicators of periodontal disease status before and after root planing. *J Clin Periodontol*. 1987 Apr;14(4):190-6.
- Hasturk H, Kantarci A.
Activation and resolution of periodontal inflammation and its systemic impact. *Periodontol 2000*. 2015;69: 255-273.
- Hasturk H, Kantarci A, Van Dyke TE.
Paradigm shift in the pharmacological management of periodontal diseases. *Front Oral Biol*. 2012;15:160-76.

- Haukioja A.
Probiotics and Oral Health. *European Journal of Dentistry*. 2010;4(3):348-355.
- Hein K.
Mundhygieneverhalten und oraler Gesundheitszustand von Soldaten unter Bedingungen eines fünfmonatigen Auslandseinsatzes. *Hamburg:Med.Diss.* 2009
- Henne HA, Flores-De-Jacoby L, Zafiropoulos GG.
Epidemiologische Untersuchung des Parodontalzustandes bei Soldaten der Bundeswehr nach Anwendung des CPITN. *Dtsch Zahnärztl Z*. 1988;43:696-700
- Herrera D, Alonso B, León R, Roldán S, Sanz M.
Antimicrobial therapy in periodontitis: the use of systemic antimicrobials against the subgingival biofilm. *J Clin Periodontol*. 2008 Sep;35(8):45-66.
- Herrmann C.
Parodontaler Status bei Typ-1-Diabetikern und insulinpflichtigen Typ-2-Diabetikern. *Würzburg:Med.Diss.* 2011
- Holtfreter B, Kocher T, Hoffmann T, Desvarieux M, Micheelis W.
Prevalence of periodontal disease and treatment demands based on a German dental survey (DMS IV). *J Clin Periodontol*. 2010 Mar;37(3):211-9.
- Hugoson A, Sjödin B, Norderyd O.
Trends over 30 years, 1973-2003, in the prevalence and severity of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2008 May;35(5):405-14.
- Hujoel P.
Dietary carbohydrates and dental-systemic diseases. *J Dent Res*. 2009 Jun;88(6):490-502.
- Hussein M.
Einfluss des täglichen Konsums L. reuteri-haltiger Lutschtabletten auf die Entzündungsstärke manifester periimplantärer Mukositis. *Würzburg:Med.Diss.* 2016
- İnce G, Gürsoy H, İpçi ŞD, Cakar G, Emekli-Alturfan E, Yılmaz S.
Clinical and Biochemical Evaluation of Lozenges Containing Lactobacillus reuteri as an Adjunct to Non-Surgical Periodontal Therapy in Chronic Periodontitis. *J Periodontol*. 2015 Jun;86(6):746-54.
- Iniesta M, Herrera D, Montero E, Zurbriggen M, Matos AR, Marín MJ, Sánchez-Beltrán MC, Llama-Palacio A, Sanz M.
Probiotic effects of orally administered Lactobacillus reuteri-containing tablets on the subgingival and salivary microbiota in patients with gingivitis. A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2012 Aug;39(8):736-44.

Ishikawa H, Akedo I, Otani T, Suzuki T, Nakamura T, Takeyama I, Ishiguro S, Miyaoka E, Sobue T, Kakizoe T.

Randomized trial of dietary fiber and *Lactobacillus casei* administration for prevention of colorectal tumors. *Int. J. Cancer*. 2005;116:762–767.

Jäsberg H, Söderling E, Endo A, Beighton D, Haukioja A.

Bifidobacteria inhibit the growth of *Porphyromonas gingivalis* but not of *Streptococcus mutans* in an in vitro biofilm model. *Eur J Oral Sci* 2016; 124: 251–258.

Jockel-Schneider Y, Goßner SK, Petersen N, Stölzel P, Hägele F, Schweiggert RM, Haubitz I, Eigenthaler M, Carle R, Schlagenhaut U.

Stimulation of the nitrate-nitrite-NO-metabolism by repeated lettuce juice consumption decreases gingival inflammation in periodontal recall patients: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2016 Jul;43(7):603-8.

Jones SE, Versalovic J.

Probiotic *Lactobacillus reuteri* biofilms produce antimicrobial and anti-inflammatory factors. *BMC Microbiology*. 2009;9:35.

Jordan RA, Micheelis W.

Fünfte Mundgesundheitsstudie (DMS V). *IDZ Materialreihe. Deutscher Ärzte-Verlag*. 2016; Band 35.

Jørgensen MR, Kragelund C, Jensen PØ, Keller MK, Twetman S.

Probiotic *Lactobacillus reuteri* has antifungal effects on oral *Candida* species in vitro. *Journal of Oral Microbiology*. 2017; 9(1):1274582.

Kabuki T, Saito T, Kawai Y, Uemura J, Itoh T.

Production, purification and characterization of reuterin 6, a bacteriocin with lytic activity produced by *Lactobacillus reuteri* LA6. *Int J Food Microbiol*. 1997 Feb;34(2):145-56.

Kandler O, Stetter K, Kohl R.

Lactobacillus reuteri sp. nov. a new species of heterofermentative lactobacilli. *Zbl. Bakt. Hyg. Abt. Orig. C1*. 1980: 264-269.

Karuppaiah RM, Shankar S, Raj SK, Ramesh K, Prakash R, Kruthika M.

Evaluation of the efficacy of probiotics in plaque reduction and gingival health maintenance among school children – A Randomized Control Trial. *Journal of International Oral Health: JIOH*. 2013;5(5):33-37.

Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global Burden of Severe Periodontitis in 1990-2010: A Systematic Review and Meta-regression. *Journal of Dental Research*. 2014;93(11):1045-1053.

- Kaur S, White S, Bartold M.
Periodontal Disease as a Risk Factor for Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. *JBI Libr Syst Rev*. 2012;10(42):1-12.
- Keller A, Rohde JF, Raymond K, Heitmann BL.
Association between periodontal disease and overweight and obesity: a systematic review. *J Periodontol*. 2015 Jun;86(6):766-76.
- Keller MK, Bardow A, Jensdottir T, Lykkeaa J, Twetman S.
Effect of chewing gums containing the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* on oral malodour. *Acta Odontol Scand*. 2012a May;70(3):246-50.
- Keller MK, Hasslöf P, Dahlén G, Stecksén-Blicks C, Twetman S.
Probiotic supplements (*Lactobacillus reuteri* DSM 17938 and ATCC PTA 5289) do not affect regrowth of mutans streptococci after full-mouth disinfection with chlorhexidine: a randomized controlled multicenter trial. *Caries Res*. 2012b;46(2):140-6.
- Keller MK, Nøhr Larsen I, Karlsson I, Twetman S.
Effect of tablets containing probiotic bacteria (*Lactobacillus reuteri*) on early caries lesions in adolescents: a pilot study. *Benef Microbes*. 2014;5(4):403-7.
- Keller MK, Twetman S.
Acid production in dental plaque after exposure to probiotic bacteria. *BMC Oral Health*. 2012;12:44.
- Köll P, Mändar R, Marcotte H, Leibur E, Mikelsaar M, Hammarström L.
Characterization of oral lactobacilli as potential probiotics for oral health. *Oral Microbiology and Immunology*, 2008; 23: 139-147.
- König J, Holtfreter B, Kocher T.
Periodontal health in Europe: future trends based on treatment needs and the provision of periodontal services – position paper 1. *European Journal of Dental Education*. 2010;14(1):4-24.
- Kraft-Bodi E, Jørgensen MR, Keller MK, Kragelund C, Twetman S.
Effect of Probiotic Bacteria on Oral Candida in Frail Elderly. *J Dent Res*. 2015 Sep;94(9):181-6.
- Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Nilsson A, Sinkiewicz G.
Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed Dent J*. 2006;30(2):55-60.
- Laleman I, Detaillieur V, Slot DE et al.
Probiotics reduce mutans streptococci counts in humans: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Invest*. 2014 July;18(6):1539-1552.

Laleman I, Yilmaz E, Ozcelik O, Haytac C, Pauwels M, Herrero ER, Slomka V, Quirynen M, Alkaya B, Teughels W.

The effect of a streptococci containing probiotic in periodontal therapy: a randomized controlled trial. *J Clin Periodontol*. 2015;42:1032-1041.

Lamont RJ, Hajishengallis G.

Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease. Trends in molecular medicine. 2015;21(3):172-183.

Lampert T, von der Lippe E, Müters S.

Verbreitung des Rauchens in der Erwachsenenbevölkerung in Deutschland – Ergebnisse der Studie zur Gesundheit in Deutschland (DEGS1).

Bundesgesundheitsbl 2013;56:802-808

Lang NP, Cumming BR, Loe H.

Toothbrushing frequency as it relates to plaque development and gingival health. *J Periodontol*. 1973 Jul;44(7):396-405.

Lange DE, Schwöppe G.

Epidemiologische Untersuchungen an Rekruten der Bundeswehr (Mund- und Gebissbefunde). *Dtsch Zahnärztl Z*. 1981;36:432-434

Lee JK, Kim SJ, Ko SH, Ouwehand AC, Ma DS.

Modulation of the host response by probiotic *Lactobacillus brevis* CD2 in experimental gingivitis. *Oral Dis*. 2015 Sep;21(6):705-712.

Lin X, Chen X, Chen Y, Jiang W, Chen H.

The effect of five probiotic lactobacilli strains on the growth and biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *Oral Dis*. 2015 Jan;21(1):e128-134.

Lin YP, Thibodeaux CH, Pena JA, Ferry GD, Versalovic J.

Probiotic *Lactobacillus reuteri* suppress proinflammatory cytokines via c-Jun. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14:1068-1083.

Lindhe J, Axelsson P, Tollskog G.

Effect of proper oral hygiene on gingivitis and dental caries in Swedish schoolchildren. *Community Dent Oral Epidemiol*. 1975 Aug;3(4):150-5.

Löe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E.

Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol*. 1986 May;13(5):431-45.

Löe H, Theilade E, Jensen SB.

Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol*. 1965 May-Jun;36:177-87.

Loesche WJ.

Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev*. 1976;9:65-107.

Loesche WJ.

Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents used according to the specific plaque hypothesis. *J Dent Res*. 1979 Dec;58(12):2404-12.

Loesche WJ.

The specific plaque hypothesis and the antimicrobial treatment of periodontal disease. *Dent Update*. 1992 Mar;19(2):68,70-2, 74.

Loesche WJ.

Microbiology of Dental Decay and Periodontal Disease. Baron S, editor. *Medical Microbiology*. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston. 1996;Chapter 99.

Lüpke M.

Veränderungen von parodontalen Parametern und der mikrobiellen Flora im Sulcus bei Soldaten der Bundeswehr unter Einsatzbedingungen. *Hamburg:Med.Diss*. 2011.

Lüpke M, Greven B.

Entzündliche Parodontalerkrankungen und ihre Relevanz im Einsatz – eine Übersicht. *Wehrmedizinische Monatsschrift*. 2010;11-12.

Maekawa T, Krauss JL, Abe T, et al.

Porphyromonas gingivalis manipulates complement and TLR signaling to uncouple bacterial clearance from inflammation and promote dysbiosis. *Cell host & microbe*. 2014;15(6):768-778.

Maekawa T, Hajishengallis G.

Topical treatment with probiotic *Lactobacillus brevis* CD2 inhibits experimental periodontal inflammation and bone loss. *Journal of periodontal research*. 2014;49(6):785-791.

Magnusson I, Lindhe J, Yoneyama T, Liljenberg B.

Recolonization of a subgingival microbiota following scaling in deep pockets. *J Clin Periodontol*. 1984 Mar;11(3):193-207.

Marsh PD.

Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology*. 2003 Feb;149(2):279-94.

Marteau PR.

Probiotics in clinical conditions. *Clinic Rev Allerg Immunol*. 2002;22:255.

Martin-Cabezas R, Davideau J-L, Tenenbaum H, Huck O.

Clinical efficacy of probiotics as an adjunctive therapy to non-surgical periodontal treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2016; 43:520–530.

- Marttinen AM, Haukioja AL, Keskin M, Söderling EM.
Effects of *Lactobacillus reuteri* PTA 5289 and *L. paracasei* DSMZ16671 on the Adhesion and Biofilm Formation of *Streptococcus mutans*. *Curr Microbiol.* 2013;67:193-199.
- Marttinen A, Haukioja A, Karjalainen S, Nylund L, Satokari R, Öhman C, Holgerson P, Twetman S, Söderling E.
Short-term consumption of probiotic lactobacilli has no effect on acid production of supragingival plaque. *Clin Oral Invest.* 2012 Jun;16(3):797-803.
- Mason MR, Nagaraja HN, Camerlengo T, Joshi V, Kumar PS.
Deep Sequencing Identifies Ethnicity-Specific Bacterial Signatures in the Oral Microbiome. *PLoS ONE.* 2013;8(10):e77287.
- Mason MR, Preshaw PM, Nagaraja HN, Dabdoub SM, Rahman A, Kumar PS.
The subgingival microbiome of clinically healthy current and never smokers. *The ISME Journal.* 2015;9:268-272.
- Mausberg R, Pieper K, Stickel J, Hornecker E.
Mundhygieneverhalten und Gebisszustand von Bundeswehr-Soldaten vor Beginn eines Prophylaxe-Programms. *Dtsch Zahnärztl Z.* 1985;40:1209-1213.
- Mekkes MC, Weenen TC, Brummer RJ, Claassen E.
The development of probiotic treatment in obesity: a review. *Benef Microbes.* 2014 Mar;5(1):19-28.
- Mercado FB, Marshall RI, Klestov AC, Bartold PM.
Relationship between rheumatoid arthritis and periodontitis. *J Periodontol.* 2001 Jun;72(6):779-87.
- Meurman JH.
Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *European Journal of Oral Sciences*, 2005;113:188-196.
- Meurman JH, Stamatova I.
Probiotics: contributions to oral health. *Oral Diseases.* 2007;13:443-451.
- Micheelis W, Reich E.
Dritte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS III). *IDZ Materialreihe, Deutscher Ärzte-Verlag.* 1999; Band 21.
- Micheelis W, Schiffner U.
Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV). *IDZ Materialreihe. Deutscher Ärzte-Verlag.* 2006; Band 31.

- Mitsuoka T.
The human gastrointestinal tract.
In: B. J. B. Wood (ed.) *The lactic acid bacteria, vol. 1. The lactic acid bacteria in health and disease. Elsevier Applied Science, London, United Kingdom.*
1992:69-114.
- Moore WE, Holdeman LV, Cato EP, Smibert RM, Burmeister JA, Ranney RR.
Bacteriology of moderate (chronic) periodontitis in mature adult humans. *Infect Immun.* 1983;42:510-515.
- Moore WE, Holdeman LV, Smibert RM, Hash DE, Burmeister JA, Ranney RR.
Bacteriology of severe periodontitis in young adult humans. *Infect Immun.*
1982;38:1137-1148.
- Mukai T, Asasaka T, Sato E, Mori K, Matsumoto M, Ohori H.
Inhibition of binding of Helicobacter pylori to the glycolipid receptors by probiotic Lactobacillus reuteri. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2002 Jan;32(2):105-10.
- Müller HP, Stadermann S, Heinecke A.
Bleeding on probing in smokers and non-smokers in a steady state plaque environment. *Clin Oral Investig.* 2001 Sep;5(3):177-84.
- Müller HP, Stadermann S, Heinecke A.
Gingival recession in smokers and non-smokers with minimal periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2002a Feb;29(2):129-36.
- Müller HP, Stadermann S, Heinecke A.
Longitudinal association between plaque and gingival bleeding in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol.* 2002b Apr;29(4):287-94.
- North Atlantic Treaty Organization (NATO)
STANAG 2466. Dental Fitness Standards for Military Personnel and the NATO Dental Fitness Classification System - AMEDP-4.4 Edition A. 2014.
- Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, Nishimura H, Ozaki Y, Ishida K, Darmawan S, Hamada T, Hara K, Matsumoto A, Takemoto T, Aimi R.
Lactobacillus reuteri in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. *Int J Food Microbiol.* 2004 Sep 1;95(2):219-23.
- Nociti FH Jr, Casati MZ, Duarte PM.
Current perspective of the impact of smoking on the progression and treatment of periodontitis. *Periodontol 2000.* 2015 Feb;67(1):187-210.
- Oelschlaeger TA.
Mechanisms of probiotic actions – A review. *International Journal of Medical Microbiology.* 2010; 300(1): 57-62.

- Ohashi Y, Ushida K.
Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. *Animal Science Journal*. 2009; 80: 361–371.
- O’Leary TJ, Drake RB, Naylor JE.
The Plaque Control Record. *Journal of Periodontology*. 1972;43:38
- Pandey V, Berwal V, Solanki N, Malik NS.
Probiotics: Healthy bugs and nourishing elements of diet. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*. 2015;5(2):81-87.
- Petersen PE, Kaka M.
Oral health status of children and adults in the Republic of Niger, Africa. *Int Dent J*. 1999 Jun;49(3):159-64.
- Plewe J.
Gebisszustand und Mundhygieneverhalten 29 – 45-jähriger Soldaten im Einzugsbereich einer Zahnarztgruppe der Bundeswehr. *Göttingen:Med.Diss*. 1992.
- Poutahidis T, Kleinewietfeld M, Smillie C, et al.
Microbial Reprogramming Inhibits Western Diet-Associated Obesity. *PLoS ONE*. 2013a;8(7):e68596.
- Poutahidis T, Kearney SM, Levkovich T, et al.
Microbial Symbionts Accelerate Wound Healing via the Neuropeptide Hormone Oxytocin. *PLoS ONE*. 2013b;8(10):e78898.
- Quirynen M, Bollen CM, Vandekerckhove BN, Dekeyser C, Papaioannou W, Eyssen H.
Full- vs. partial-mouth disinfection in the treatment of periodontal infections: short-term clinical and microbiological observations. *J Dent Res*. 1995 Aug;74(8):1459-67.
- Quirynen M, Mongardini C, de Soete M, Pauwels M, Coucke W, Van Eldere J, Van Steenberghe D.
The rôle of chlorhexidine in the one-stage full-mouth disinfection treatment of patients with advanced adult periodontitis. Long-term clinical and microbiological observations. *J Clin Periodontol*. 2000 Aug;27(8):578-89.
- Quirynen M, Teughels W, Van Steenberghe D.
Impact of antiseptics on one-stage, full-mouth disinfection. *Journal of Clinical Periodontology*. 2006;33:49-52.
- Ramberg P, Axelsson P, Lindhe J.
Plaque formation at healthy and inflamed gingival sites in young individuals. *J Clin Periodontol*. 1995 Jan;22(1):85-8.

- Rechmann P.
Parodontal- und kariesepidemiologische Untersuchung an Rekruten der Bundeswehr. *Wehrmed Mschr.* 1984; 28:288-296.
- Rellermeier I.
Viermonatige Feldstudie zur Mundgesundheit, zum Zahnpflegeverhalten und zum zahnärztlichen Behandlungsbedarf auf einem Schiff der Bundesmarine unter Einsatzbedingungen. *Göttingen:Med.Diss.* 1998.
- Reuter G.
The Lactobacillus and Bifidobacterium microflora of the human intestine: composition and succession. *Curr Issues Intest Microbiol.* 2001 Sep;2(2):43-53.
- Reuter G.
Das Vorkommen von Laktobazillen in Lebensmitteln und ihr Verhalten im menschlichen Intestinaltrakt. *Zbl Bak Parasit Infec Hyg I Orig.* 1965;197:468-87.
- Roberts FA, Darveau RP.
Beneficial bacteria of the periodontium. *Periodontology* 2000. 2002;30:40–50.
- Rosander A, Connolly E, Roos S.
Removal of Antibiotic Resistance Gene-Carrying Plasmids from Lactobacillus reuteri ATCC 55730 and Characterization of the Resulting Daughter Strain, L. reuteri DSM 17938. *Applied and Environmental Microbiology.* 2008;74(19):6032-6040.
- Rosania AE, Low KG, McCormick CM, Rosania DA.
Stress, depression, cortisol, and periodontal disease. *J Periodontol.* 2009 Feb;80(2):260-6.
- Ruiz-Palacios G, Guerrero ML, Hilty M.
Feeding of a probiotic for the prevention of communityacquired diarrhea in young Mexican children. *Pediatr Res.* 1996; 39(4).
- Sansonetti PJ.
To be or not to be a pathogen: that is the mucosally relevant question. *Mucosal Immunol.* 2011 Jan;4(1):8-14.
- Santos F, Vera JL, van der Heijden R, Valdez G, de Vos WM, Sesma F, Hugenholtz J.
The complete coenzyme B12 biosynthesis gene cluster of Lactobacillus reuteri CRL1098. *Microbiology.* 2008 Jan;154(1):81-93.

- Sanz M, Bäumer A, Buduneli N, Dommisch H, Farina R, Kononen E, Linden G, Meyle J, Preshaw PM, Quirynen M, Roldan S, Sanchez N, Sculean A, Slot DE, Trombelli L, West N, Winkel E.
Effect of professional mechanical plaque removal on secondary prevention of periodontitis and the complications of gingival and periodontal preventive measures: consensus report of group 4 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *J Clin Periodontol*. 2015 Apr;42(16):214-220.
- Savino F, Cordisco L, Tarasco V, Palumeri E, Calabrese R, Oggero R, Roos S, Matteuzzi D.
Lactobacillus reuteri DSM 17938 in infantile colic: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics*. 2010 Sep;126(3):e526-33.
- Schaefer AS, Bochenek G, Manke T, Nothnagel M, Graetz C, Thien A, Jockel-Schneider Y, Harks I, Staufienbiel I, Wijmenga C, Eberhard J, Guzeldemir-Akcakanat E, Cine N, Folwaczny M, Noack B, Meyle J, Eickholz P, Trombelli L, Scapoli C, Nohutcu R, Bruckmann C, Doerfer C, Jepsen S, Loos BG, Schreiber S.
Validation of reported genetic risk factors for periodontitis in a large-scale replication study. *J Clin Periodontol*. 2013 Jun;40(6):563-72.
- Schaefer L, Auchtung TA, Hermans KE, Whitehead D, Borhan B, Britton RA.
The antimicrobial compound reuterin (3hydroxypropionaldehyde) induces oxidative stress via interaction with thiol groups. *Microbiology*. 2010;156:1589-1599.
- Schlagenhauf U, Fickl S, Jockel-Schneider Y, Bechtold M.
Adjuvante systemische Antibiotika in der Parodontitistherapie-Das Konzept Würzburg. *Parodontologie*. 2016a;27(2):125-130.
- Schlagenhauf U, Jakob L, Eigenthaler M, Segerer S, Jockel-Schneider Y, Rehn M.
Regular consumption of Lactobacillus reuteri-containing lozenges reduces pregnancy gingivitis: an RCT. *J Clin Periodontol*. 2016b Nov;43(11):948-954.
- Schultz-Haudt S, Bruce MA, Bibby BG.
Bacterial factors in nonspecific gingivitis. *J Dent Res*. 1954a Aug;33(4):454-8.
- Schultz-Haudt S, Bibby BG, Bruce MA.
Tissue-destructive products of gingival bacteria from nonspecific gingivitis. *J Dent Res*. 1954b Oct;33(5):624-31.
- Schulze J, Sonnenborn U, Ölschläger T, Kruis W.
Probiotika: Mikroökologie, Mikrobiologie, Qualität, Sicherheit und gesundheitliche Effekte. *Georg Thieme Verlag* 2008.

- Serhan CN.
Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annu Rev Immunol*. 2007;25:101-37.
- Serhan CN, Brain SD, Buckley CD, et al.
Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2007;21(2):325-332.
- Serhan CN, Savill J.
Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol*. 2005 Dec;6(12):1191-7.
- Shornikova AV, Casas IA, Isolauri E, Mykkänen H, Vesikari T.
Lactobacillus reuteri as a therapeutic agent in acute diarrhea in young children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1997a Apr;24(4):399-404.
- Shornikova AV, Casas IA, Mykkänen H, Salo E, Vesikari T.
Bacteriotherapy with Lactobacillus reuteri in rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis J*. 1997b Dec;16(12):1103-7.
- Shungin D, Cornelis MC, Divaris K, et al.
Using genetics to test the causal relationship of total adiposity and periodontitis: Mendelian randomization analyses in the Gene-Lifestyle Interactions and Dental Endpoints (GLIDE) Consortium. *International Journal of Epidemiology*. 2015;44(2):638-650.
- Simon MC, Strassburger K, Nowotny B, Kolb H, Nowotny P, Burkart V, Zivehe F, Hwang JH, Stehle P, Pacini G, Hartmann B, Holst JJ, MacKenzie C, Bindels LB, Martinez I, Walter J, Henrich B, Schloot NC, Roden M.
Intake of Lactobacillus reuteri Improves Incretin and Insulin Secretion in Glucose-Tolerant Humans: A Proof of Concept. *Diabetes Care*. 2015 Oct;38(10):1827-1834.
- Sinkiewicz G.
Lactobacillus reuteri in health and disease. *Malmö University Health and Society Doctoral Dissertations*. 2010:3.
- Sinkiewicz G, Cronholm S, Ljunggren L, Dahlén G, Bratthall G.
Influence of dietary supplementation with Lactobacillus reuteri on the oral flora of healthy subjects. *Swed Dent J*. 2010;34(4):197-206.
- Slots J.
Microflora in the healthy gingival sulcus in man. *Scand J Dent Res*. 1977a;85:247-254.

Slots J.

The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. *Scand J Dent Res.* 1977b; 85:114-121.

Slots J.

Bacterial specificity in adult periodontitis. A summary of recent work. *J Clin Periodontol.* 1986 Nov;13(10):912-7.

Slots J, Listgarten MA.

Bacteroides gingivalis, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 1988 Feb;15(2):85-93.

Socransky SS.

Microbiology of periodontal disease – present status and future considerations. *J Periodontol.* 1977;48:497-504.

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr.

Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998;25:134-144.

Spinler JK, Sontakke A, Hollister EB, et al.

From Prediction to Function Using Evolutionary Genomics: Human-Specific Ecotypes of *Lactobacillus reuteri* Have Diverse Probiotic Functions. *Genome Biology and Evolution.* 2014 Jul;6(7):1772-1789.

Staab B., Eick S., Knöfler G., Jentsch H.

The influence of a probiotic milk drink on the development of gingivitis: a pilot study. *Journal of Clinical Periodontology.* 2009;36: 850-856.

Stadermann S.

Longitudinale Untersuchung zur Entwicklung von Plaqueinduzierter Gingivitis und parodontalen Rezessionen bei Rauchern und Nichtrauchern. *Heidelberg:Med.Diss.* 2001.

Stamatova I, Meurman JH.

Probiotics and periodontal disease. *Periodontology 2000.* 2009; 51:141-151.

Stensson M, Koch G, Coric S, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Birkhed D, Wendt LK.

Oral administration of *Lactobacillus reuteri* during the first year of life reduces caries prevalence in the primary dentition at 9 years of age. *Caries Res.* 2014;48(2):111-7.

Sutula J, Coulthwaite L, Thomas L, Verran J.

The effect of a commercial probiotic drink on oral microbiota in healthy complete denture wearers. *Microbial Ecology in Health and Disease.* 2012;23:10.3402.

Suvan JE.
Effectiveness of mechanical nonsurgical pocket therapy. *Periodontology* 2000.
2005;37: 48-71.

Szkaradkiewicz AK, Stopa J, Karpiński TM.
Effect of Oral Administration Involving a Probiotic Strain of *Lactobacillus reuteri*
on Pro-Inflammatory Cytokine Response in Patients with Chronic Periodontitis.
Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis. 2014;62(6):495-500.

Talarico TL, Casas IA, Chung TC, Dobrogosz WJ.
Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by
Lactobacillus reuteri. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.
1988;32(12):1854-1858.

Talarico TL, Dobrogosz WJ.
Chemical characterization of an antimicrobial substance produced by
Lactobacillus reuteri. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.
1989;33(5):674-679.

Tanner ACR, Haffer C, Bratthall GT, Visconti RA, Socransky SS.
Study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J Clin
Periodontol*. 1979; 1979; 6 :278-307.

Tekce M, Ince G, Gursoy H, Dirikan Ipci S, Cakar G, Kadir T, Yılmaz S.
Clinical and microbiological effects of probiotic lozenges in the treatment of
chronic periodontitis: a 1-year follow-up study. *J Clin Periodontol*.
2015 Apr;42(4):363-72.

Teughels W, Durukan A, Ozcelik O, Pauwels M, Quirynen M, Haytac MC.
Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the
treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study.
Journal of Clinical Periodontology. 2013;40(11):1025-1035.

Teughels W, Loozen G, Quirynen M.
Do probiotics offer opportunities to manipulate the periodontal oral microbiota?
Journal of Clinical Periodontology. 2011;38:159-177.

Teughels W, van Essche M, Sliepen I, Quirynen M.
Probiotics and oral healthcare. *Periodontol 2000*. 2008;48:111-147.

The Human Microbiome Project Consortium.
Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*.
2012 Jun;486:207-214.

Thomas CM, Hong T, van Pijkeren JP, et al.
Histamine Derived from Probiotic *Lactobacillus reuteri* Suppresses TNF via
Modulation of PKA and ERK Signaling. Heimesaat MM, ed. *PLoS ONE*.
2012;7(2):e31951.

Toiviainen A, Jalasvuori H, Lahti E, et al.
Impact of orally administered lozenges with *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 on the number of salivary mutans streptococci, amount of plaque, gingival inflammation and the oral microbiome in healthy adults. *Clinical Oral Investigations*. 2015;19:77-83.

Tonetti MS, Chapple IL, Jepsen S, Sanz M.
Primary and secondary prevention of periodontal and peri-implant diseases: Introduction to, and objectives of the 11th European Workshop on Periodontology consensus conference. *J Clin Periodontol*. 2015a;42(16):1-4.

Tonetti MS, D'Aiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, Suvan J, Hingorani AD, Vallance P, Deanfield J.
Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J Med*. 2007 Mar 1;356(9):911-20.

Tonetti MS, Eickholz P, Loos BG, Papapanou P, van der Velden U, Armitage G, Bouchard P, Deinzer R, Dietrich T, Hughes F, Kocher T, Lang NP, Lopez R, Needleman I, Newton T, Nibali L, Pretzl B, Ramseier C, Sanz-Sanchez I, Schlegelhauf U, Suvan JE.
Principles in prevention of periodontal diseases: Consensus report of group 1 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *J Clin Periodontol*. 2015b;42(16):5-11.

Tubelius P, Stan V, Zachrisson A.
Increasing work-place healthiness with the probiotic *Lactobacillus reuteri*: A randomised, double-blind placebo-controlled study. *Environmental Health*. 2005;4:25.

Tunkel J, Heinecke A, Flemmig TF.
A systematic review of efficacy of machine-driven and manual subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2002;29(3):72-81; discussion 90-1.

Turesky S, Glickman I, Sandberg R.
In Vitro Chemical Inhibition of Plaque Formation. *Journal of Periodontology*. 1972;43(5):263-269.

Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett C, Knight R, Gordon JI.
The human microbiome project: exploring the microbial part of ourselves in a changing world. *Nature*. 2007;449(7164):804-810.

Twetman S, Derawi B, Keller M, Ekstrand K, Yucel-Lindberg T, Stecksén-Blicks C.
Short-term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. *Acta Odontol Scand*. 2009;67(1):19-24.

- Valeur N, Engel P, Carbajal N, Connolly E, Ladefoged K.
Colonization and Immunomodulation by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 in the Human Gastrointestinal Tract. *Applied and Environmental Microbiology*. 2004;70(2):1176-1181.
- Van der Velden U.
The significance of supragingival plaque accumulation in periodontal disease. *Int J Dent Hyg*. 2006 Sep;4(1):11-4; discussion 50-2.
- Van der Weijden GA, Timmerman MF.
A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2002;29(3):55-71; discussion 90-1.
- Van Dyke TE.
The Management of Inflammation in Periodontal Disease. *Journal of periodontology*. 2008;79(8):1601-1608.
- Van Dyke TE, Kornman KS.
Inflammation and factors that may regulate inflammatory response. *J Periodontol*. 2008 Aug;79(8):1503-7.
- Van Dyke TE, Serhan CN.
Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res*. 2003 Feb;82(2):82-90.
- Van Winkelhoff AJ, Rodenburg JP, Goené RJ, Abbas F, Winkel EG, de Graaff J.
Metronidazole plus amoxicillin in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1989 Feb;16(2):128-31.
- Vicario M, Santos A, Violant D, Nart J, Giner L.
Clinical changes in periodontal subjects with the probiotic *Lactobacillus reuteri* Prodentis: a preliminary randomized clinical trial. *Acta Odontol Scand*. 2013 May-Jul;71(3-4):813-9.
- Vivekananda MR, Vandana KL, Bhat KG.
Effect of the probiotic *Lactobacilli reuteri* (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. *Journal of Oral Microbiology*. 2010;2:10.3402.
- Voreades N, Kozil A, Weir TL.
Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Front Microbiol*. 2014 Sep 22;5:494.

Vuotto C, Longo F, Donelli G.
Probiotics to counteract biofilm-associated infections: promising and conflicting data. *International Journal of Oral Science*. 2014;6(4):189-194.

Wallace CJK, Milev R.
The effects of probiotics on depressive symptoms in humans: a systematic review. *Annals of General Psychiatry*. 2017;16:14.

Walter J.
Ecological Role of Lactobacilli in the Gastrointestinal Tract: Implications for Fundamental and Biomedical Research. *Applied and Environmental Microbiology*. 2008;74(16):4985-4996.

Walter J, Britton RA, Roos S.
Host-microbial symbiosis in the vertebrate gastrointestinal tract and the *Lactobacillus reuteri* paradigm. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011a;108(1):4645-4652.

Walter C, Kulik EM, Weiger R, Zitzmann NU, Waltimo T.
Additive or synergistic antimicrobial effects of amoxicillin and metronidazole on whole plaque samples: a preliminary report. *J Int Acad Periodontol*. 2011b Jan;13(1):11-6.

Wei C, Brent MR.
Using ESTs to improve the accuracy of de novo gene prediction. *BMC Bioinformatics*. 2006;7:327.

Weizman Z, Asli G, Alsheikh A.
Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. *Pediatrics*. 2005 Jan;115(1):5-9.

Wennström A, Wennström J, Lindhe J.
Healing following surgical and non-surgical treatment of juvenile periodontitis. A 5-year longitudinal study. *J Clin Periodontol*. 1986 Oct;13(9):869-82.

Woelber JP, Bremer K, Vach K, König D, Hellwig E, Ratka-Krüger P, Tennert C.
An oral health optimized diet can reduce gingival and periodontal inflammation in humans - a randomized controlled pilot study. *BMC Oral Health*. 2017;17:28.

World Health Organization (WHO)
Guideline: Sugars intake for adults and children. Genf. 2015.

World Health Organization (WHO)
Oral health surveys, basic methods, 4th edition, WHO, Oral Health Unit, Genf. 1997

Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, Timmerman MF, Van der Velden U, Van der Weijden GA.
Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*. 2001;28(4):296-305.

Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS.
Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2000 Sep;27(9):648-57.

Yang X, Xie L, Li Y, Wie C.
More than 9,000,000 Unique Genes in Human Gut Bacterial Community: Estimating Gene Numbers Inside a Human Body. *PLoS ONE*. 2009 Jun; 4(6):e6074.

Zambon JJ.
Periodontal diseases: microbial factors. *Ann Periodontol*. 1996 Nov;1(1):879-925.

I. Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------|---|
| <i>AAP</i> | <i>American Academy of Periodontology</i> |
| ANCOVA | Analysis of Covariance |
| BoP | Bleeding on Probing |
| BMVg | Bundesministerium der Verteidigung |
| CAL | Clinical Attachment Level |
| CFU | Colony Forming Unit |
| CI | Konfidenzintervall |
| CRF | Case Report Form |
| CPI | Community Periodontal Index |
| DFC | Dental Fitness Class |
| DMS | Deutsche Mundgesundheitsstudie |
| <i>EFSA</i> | <i>European Food Safety Authority</i> |
| FA InspSan | Fachdienstliche Anweisung des Inspektors des Sanitätendienstes der Bundeswehr |
| <i>FAO</i> | <i>Food and Agriculture Organisation</i> |
| GI | Gingival-Index |
| ID | Probanden-Identifikationsnummer |
| <i>ISAF</i> | <i>International Security Assistance Force</i> |
| LOCF-Analyse | Last Observation Carried Forward-Analyse |
| <i>L. reuteri</i> | <i>Lactobacillus reuteri</i> |
| MW | Mittelwert |
| <i>NATO</i> | <i>North Atlantic Treaty Organization</i> |
| PCR | Plaque Control Record |
| PSD Model | Polymicrobial Synergy and Dysbiosis Model |

| | |
|--------|----------------------------------|
| PPD | Probing Pocket Depth |
| PSI | Periodontal Screening Index |
| SAP | Statistisches Analyseprotokoll |
| SD | Standardabweichung |
| STANAG | Standardization Agreement |
| SRP | Scaling and Root Planing |
| WHO | <i>World Health Organization</i> |

II. Darstellungsverzeichnis

II.1 Abbildungen

| | |
|--|----|
| Abbildung 1: Studienschiff Fregatte <i>Brandenburg</i> | 38 |
| Abbildung 2: Schiffslazarett mit Bordzahnstation | 39 |
| Abbildung 3: Bordzahnstation in Transportkisten | 39 |
| Abbildung 4: Untersuchungsmaterialvorrat | 44 |
| Abbildung 5: Vorbereitetes Untersuchungstray | 44 |
| Abbildung 6: Studienuntersuchung im Schiffslazarett | 45 |
| Abbildung 7: Studienuntersuchung und Dokumentation..... | 45 |
| Abbildung 8: Lutschtabletten und Zuckerfragebogen | 46 |
| Abbildung 9: Erfassen des BoP | 48 |
| Abbildung 10: Erfassen des PPD und CAL | 48 |
| Abbildung 11: Erheben des PCR..... | 49 |
| Abbildung 12: Anfärben der Plaque..... | 50 |
| Abbildung 13: Erfassen des PCR..... | 50 |
| Abbildung 14: Studienablaufplan..... | 53 |
| Abbildung 15: BoP – Entwicklung im zeitlichen Studienverlauf | 59 |
| Abbildung 16 a-d: BoP – Veränderungen Raucher/Nichtraucher | 61 |
| Abbildung 17: PPD – Entwicklung im zeitlichen Studienverlauf..... | 65 |
| Abbildung 18: CAL – Entwicklung im zeitlichen Studienverlauf | 66 |
| Abbildung 19: GI – Entwicklung der Häufigkeitsverteilung | 69 |
| Abbildung 20: PCR – Entwicklung im zeitlichen Studienverlauf | 73 |

II.2 Tabellen

| | |
|---|----|
| Tabelle 1: Probandencharakteristika | 55 |
| Tabelle 2: BoP – Unterschiede Eingangs-/Zwischenuntersuchung | 57 |
| Tabelle 3: BoP – Unterschiede Eingangs-/Abschlussuntersuchung..... | 57 |
| Tabelle 4: BoP – Veränderungen je Proband..... | 60 |
| Tabelle 5: PPD und CAL – Unterschiede Eingangs-/Zwischenuntersuchung .. | 63 |
| Tabelle 6: PPD und CAL – Unterschiede Eingangs-/Abschlussuntersuchung . | 64 |
| Tabelle 7: GI – Unterschiede Eingangs-/Zwischenuntersuchung..... | 67 |
| Tabelle 8: GI – Unterschiede Eingangs-/Abschlussuntersuchung..... | 67 |
| Tabelle 9: GI – Veränderungen je Proband..... | 70 |
| Tabelle 10: PCR – Unterschiede Eingangs-/Zwischenuntersuchung | 71 |
| Tabelle 11: PCR – Unterschiede Eingangs-/Abschlussuntersuchung..... | 71 |

III. Anhang

III.1 Ethikvotum

| | |
|--|--|
|   | |
| <p>Ethik-Kommission • Versbacher Str. 9 • 97078 Würzburg</p> <p>Prof. Dr. med. dent. Ulrich Schlagenhauf Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie Abteilung für Parodontologie Pleicherwall 2 97070 Würzburg</p> | <p>Ethik-Kommission Institut für Pharmakologie und Toxikologie Versbacher Str. 9 97078 Würzburg</p> <p>Vorsitzende: Prof. Dr. E.-B. Bröcker Geschäftsführer: Dr. R. Wölfel Sekretariat: S. Schmidt/M. Keidel/M. Geiger Telefon 0049 (0)931 31 48315 Telefax 0049 (0)931 31 87520 ethikkommission@uni-wuerzburg.de www.ethik-kommission.medizin.uni-wuerzburg.de</p> <p>Würzburg, 02.05.2016/mk</p> |
| <p>unser Zeichen: 81/16-ge (bitte bei Schriftwechsel angeben) Tel. Durchwahl: 0931 31 80093</p> | |
| <p>Beratung nach § 15 Berufsordnung für Ärzte in Bayern</p> | |
| <p>Prüfplan: NAVLAC16 Studientitel: Einfluss des täglichen Konsums L.reuteri-haltiger Lutschtabletten auf die Mund- u. Allgemeingesundheit von Besatzungsmitgliedern eines Marineschiffes auf See (NAVLAC16) Antragsteller: Prof. Dr. med. dent. Ulrich Schlagenhauf, Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, Abteilung für Parodontologie, Pleicherwall 2, 97070 Würzburg</p> | |
| <p>Sehr geehrter Herr Prof. Schlagenhauf,</p> <p>die Ethik-Kommission hat Ihren Antrag vom 07.03.2016 auf der Basis der Unterlagen in Anhang 1 geprüft und in der Sitzung am 19.04.2016 beraten.</p> | |
| <p>Die Ethik-Kommission erhebt keine Einwände gegen die Durchführung der Studie.</p> | |
| <p>Allerdings empfiehlt sie, folgende Hinweise zu beachten: Im Antrag ist unter Punkt II/2 das Alter der Teilnehmer auf ≥ 18 und ≤ 65 zu korrigieren (siehe Protokoll) Bitte geben Sie bei künftigen Anträgen konkrete Angaben in den Punkten II/6 a bis c an. Verweise auf das Protokoll sind nicht ausreichend und werden nicht mehr akzeptiert. Generell sollten in den Ausführungen zum Umgang mit den Daten/Proben, sofern nicht bereits gelistet, folgende Punkte angeführt sein: Angaben zur Datenspeicherung/Probenlagerung (was, wo, in welcher Form [pseudonymisiert/anonymisiert erklären]), wer hat Zugang, wer ist verantwortlich, erfolgt eine Weitergabe, wenn ja an wen und in welcher Form, Veröffentlichung der Daten in welcher Form, konkrete Dauer der Datenspeicherung/Probenlagerung, was passiert mit den Daten/Proben bei einem Widerruf bzw. nach regulärer Lagerungsdauer etc. Die Ethik-Kommission empfiehlt am Ende der Speicherdauer oder bei einem Widerruf die Daten zu anonymisieren statt diese zu löschen. Die Vernichtung von Probenmaterial bleibt hiervon unberührt.</p> | |
| <p>Die Ethik-Kommission bittet die vorgesehenen Untersuchungsbögen/Formblätter nachzureichen (elektronische Form ausreichend).</p> | |
| <p>Es obliegt dem verantwortlichen Untersucher dafür Sorge zu tragen, dass die Freiwilligkeit der Teilnahme nicht durch ein Abhängigkeitsverhältnis beeinträchtigt wird.</p> | |

Allgemeine Hinweise:

Sie werden um Beachtung folgender Punkte gebeten:

- Ihrem Antrag entsprechend vorzugehen. Änderungen hierzu sind der Ethik-Kommission zur erneuten Prüfung vorzulegen.
- Die Deklaration des Weltärztebundes in der aktuellen Version hinsichtlich der ethischen und rechtlichen Aspekte biomedizinischer Forschung am Menschen zu beachten.
- Der Ethik-Kommission das Studienende anzuzeigen und einen Kurzbericht über das Ergebnis der Studie vorzulegen.

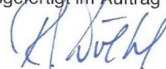
Entsprechend der ausschließlich beratenden Funktion der Ethik-Kommission betrifft unser Votum nur die ethische Beurteilung des Projektes. Die ethische und rechtliche Verantwortung für die Durchführung dieser Studie verbleibt bei den Untersucherinnen/Untersuchern.

Die Ethik-Kommission wünscht Ihnen für Ihr Vorhaben viel Erfolg.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. med. Eva-Bettina Bröcker
Seniorprofessorin
Vorsitzende der Ethik-Kommission

Ausgefertigt im Auftrag



Dr. med. Reinhard Wölfel
Geschäftsführer der Ethik-Kommission

Anhang 1

Antrag vom 07.03.2016
EinwilligungNAVLAC16V1-1.doc
EthikantragNAVLAC16.doc
PatienteninformationNAVLAC16V1-1.doc
StudyProtocolNAVLAC16.doc

III.2 Genehmigung des Prüfplanes

Prüfplan NAVLAC16 VBw1.1

Prüfplan

gemäß FA InspSan A 54.01 Nr. 3.1 (Version Bw 1.1; Stand 06.05.2016)

zur Studie:

„Auswirkungen des täglichen Verzehrs von L.reuteri haltigen Pastillen auf Mund- und Allgemeingesundheit bei Besatzungsmitgliedern eines Marineschiffs auf See“

(Impact of the daily consumption of L.reuteri-containing lozenges on oral and general health in crew members of a naval ship at sea (NAVLAC16))

-
- Bezug:
1. genehmigte Projektskizze vom 22.02.2016
 2. Antrag auf Sonderforschung für die Laboranalyse der im Rahmen des mit Bezug 1 skizzierten Ressortforschungsprojekts gewonnenen mikrobiologischen Proben vom 22.02.2016

Anlagen: - 8 -

1. Stellungnahme gemäß FA InspSan A 54.01 Nr. 3.1
2. Case Report Form (CRF) zur Studie NAVLAC16
3. Ausfüllanleitung zum CRF zur Studie NAVLAC16
4. Dokumentationsvorlage Kurzzeiterkrankungen
5. Dokumentationsvorlage Ernährung
6. Probandeninformation zur Studie NAVLAC16
7. Einwilligungserklärung zur Studie NAVLAC16
8. Ethikvotum zur Studie NAVLAC16

Prüfplan erstellt
Projektoffizier:

Kronshagen, 06.05.2016
(Datum)

im Original gezeichnet:

Rehder, Flottillenarzt
(Unterschrift)

Prüfplan geprüft
SchiffMedInstM – AbtLtr III:

Kronshagen, 09.05.2016
(Datum)

im Original gezeichnet:

Prof. Dr. Koch, Flottenarzt
(Unterschrift)

Prüfplan genehmigt
SchiffMedInstM - Ltr:

Kronshagen, 09.05.2016
(Datum)

im Original gezeichnet:

Dr. Neidhardt, Flottenarzt
(Unterschrift)

Seite 1 von 14

III.3 Informationsvortrag für Probanden

Schiffahrtsmedizinisches Institut der Marine 
Wir. Dienen. Deutschland.


Zahnmedizinisches Forschungsvorhaben

Fregatte BRANDENBURG

17. Mai – 09. Juli 2016

**Auswirkungen probiotischer Lutschpastillen
auf die Mund- und Allgemeingesundheit**

Abteilung III 1 – Angewandte Wissenschaften -
Flottenarzt Juliane Rehder


Schiffahrtsmedizinisches Institut der Marine 
Wir. Dienen. Deutschland.

Offizieller Titel der Studie:

"Impact of the daily consumption of L.reuteri-containing lozenges on oral and general health in crew members of a naval ship at sea"

„Auswirkungen des täglichen Verzehrs von L.reuteri-haltigen Pastillen auf Mund- und Allgemeingesundheit bei Besatzungsmitgliedern eines Marineschiffs auf See“

SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 2

 **Marine**
Wir. Dienen. Deutschland.

Warum wollen wir eine Studie mit Besatzungsmitgliedern einer Fregatte machen?


Sie sind der Meinung, dass Sie als Besatzung der Fregatte BRANDENBURG etwas Besonderes sind?

Das ist natürlich so!

Aber nun liefern wir Ihnen auch einen sachlichen Grund, auf den Sie diese Annahme stützen können:

Aus wissenschaftlicher Sicht, sind Sie eine wirklich ganz außergewöhnliche Gruppe, die Ihresgleichen sucht...

SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 3

 **Marine**
Wir. Dienen. Deutschland.

... weil alle möglichen Studienteilnehmer


- im gleichen Umfeld unter ähnlichen Bedingungen leben und arbeiten,
- als Gruppe weitestgehend zusammenbleiben,
- hervorragend an Termine „erinnert“ werden können,
- die gleiche Truppenverpflegung essen,
- grundsätzlich gesund (borddienstverwendungsfähig) und
- auch noch beim gleichen Hausarzt in Behandlung sind.

SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 4

 **Marine**
Wir. Dienen. Deutschland.



SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 5



SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 6

Ziel und Zweck der Studie

Was wollen wir machen?

- Sie lutschen während Seefahrt sechs Wochen lang 2x täglich eine probiotische Pastille.
- Wir untersuchen und bewerten die Auswirkungen auf ihre Mund- und Allgemeingesundheit.

SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 7

Erwartetes Ergebnis

Was glauben wir, kommt dabei raus?

Wir erwarten eine deutliche Abnahme von

- Zahnfleischentzündung,
- Zahnfleischbluten,
- Zahnfleischtaschen,
- Zahnbelag,
- und krankmachenden Bakterien in Mund und Darm.

SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 8

Wehrmedizinischer Nutzen

Was bringt das der Bundeswehr?

- wirksame vorbeugende Maßnahme zur Verbesserung der dentalen Fitness und damit
- Verbesserung der zahnärztlichen Verwendungsfähigkeit der Soldaten im Einsatz

SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 9

...und Nutzen für jeden Einzelnen?

Was bringt das Ihnen persönlich?

- Wirksame vorbeugende Maßnahme zur Verbesserung der eigenen Gesundheit



SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 10

Etabliertes Wissen

oder:

Wie glauben Experten, dass Zahnfleischbluten und Parodontitis, also „Zahnfleischschwund“, eigentlich entstehen?

...und wie werden diese Krankheiten bekämpft oder noch besser verhindert?

SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 11

Wissenschaftliche Grundlagen

Historie:

Ein sauberer Zahn wird nicht krank

- Bakterielle Zahnbeläge sind per se krankmachend und müssen regelmäßig entfernt werden
- Zahnfleischentzündung und Parodontitis entstehen ausschließlich durch mangelhafte Mundhygiene
- Kein Zahnbelag = Keine Entzündung

➤ **Unspezifische Plaquehypothese:**
Allein die Menge an Zahnbelag ist entscheidend
„Die Menge macht das Gift“

SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 12

Wissenschaftliche Grundlagen



SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 13

Wissenschaftliche Grundlagen

- **Spezifische Plaquehypothese:**
Nicht allein die Menge an Zahnbelag ist entscheidend
„Klasse statt Masse“

- spezielle Bakterien sind für die Entstehung von Parodontitis verantwortlich
- spezielle Bakterien gelten als Ursache für das Voranschreiten von Entzündungen in Zahnfleischtaschen
- Bei entsprechend veranlagten Patienten kommt es zu einer „Bakterienverschiebung“ von gesund nach krank

SchiffMedInstM III - Flottenarzt Juliane Rehder Seite 14

Wissenschaftliche Grundlagen

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

SchiffMedizin M II - Floßklinikarzt Juliane Rehder Seite 15

Wissenschaftliche Grundlagen

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

➤ **Opportunistische Plaquehypothese:**

Es braucht mehr als nur krankmachende Bakterien, um eine Parodontitis auszulösen.

Zusätzliche lokale und genetische Risikofaktoren:

- Rauchen
- Stress
- Allgemeinerkrankungen (z.B. Diabetes)
- Genetische Faktoren
- Ernährung
- Umwelt/soziales Umfeld
- Immunabwehr

SchiffMedizin M II - Floßklinikarzt Juliane Rehder Seite 16

Wissenschaftliche Grundlagen

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

Studie „Steinzeit“:
nach 4 Wochen:
mehr Zahnbelag
aber:
erheblich weniger
Zahnfleischbluten

Studie „Salatsaftgetränk“:
nach 2 Wochen:
deutlich reduzierte
Zahnfleischentzündung

SchiffMedizin M II - Floßklinikarzt Juliane Rehder Seite 17

Wissenschaftliche Grundlagen

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

Beeinflussung der Zusammensetzung der vielfältigen Bakterien, die die Mundhöhle besiedeln?

Vorbeugen der „Bakterienverschiebung“ von gesund nach krank durch:

- Ernährungsumstellung
- Raucherentwöhnung
- Programme zur Stressreduktion
- Änderung des Lebensstils

Ist das nachhaltig individuell praxistauglich?

SchiffMedizin M II - Floßklinikarzt Juliane Rehder Seite 18

Mikrobiom des Menschen

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

Der Mensch und „seine“ Bakterien

10¹³ (10 Billionen) Körperzellen
10¹⁴ (100 Billionen) Bakterien im Dickdarm

- ca. 1000 verschiedene Bakterienarten im Körper
- Anzahl der bakteriellen Gene in unserem Körper um den Faktor 100 höher als körpereigene Gene

symbionte Bakt. notwendig kommensale Bakt. harmlos pathogene Bakt. gefährlich

SchiffMedizin M II - Floßklinikarzt Juliane Rehder Seite 19

Mikrobiom des Menschen

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

- > 7000 Jahren: Jäger u. Sammler (Steinzeit)
 - bakterielle Artenvielfalt im Mund 3 x höher als bei heutigen Menschen
 - parodontal gesund
- ≤ 7000 Jahren: Beginn des Ackerbaus
 - ausgeprägter Rückgang der bakteriellen Artenvielfalt im Mund
 - Parodontitis als Massenphänomen
- ≤ 250 Jahren: Beginn des Industriezeitalters
 - Zuckerkonsum als Massenphänomen
 - weiterer Rückgang der bakteriellen Artenvielfalt
 - Parodontitis, Karies, Arteriosklerose, etc... als Massenphänomen

SchiffMedizin M II - Floßklinikarzt Juliane Rehder Seite 20

Aktueller Forschungsansatz

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

Beeinflussung der Zusammensetzung der vielfältigen Bakterien, die die Mundhöhle besiedeln?

Vorbeugen / Umkehren der „Bakterienverschiebung“ von gesund nach krank durch:

- Konsum von Lebensmitteln mit lebenden Bakterien mit gesundheitsfördernder Wirkung

➤ **Probiotika in der Zahnheilkunde**

Modetrend?
...oder die nächste Änderung gültiger Denkmuster?

SchiffMedizin M II - Floßklinikarzt Juliane Rehder Seite 21

Probiotika

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

Wikipedia:
Lebensmittelzubereitung mit lebensfähigen Mikroorganismen

z.B. Laktobazillen, Bifidobakterien, Hefen....

SchiffMedizin M II - Floßklinikarzt Juliane Rehder Seite 22

Lactobacillus reuteri

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

Lactobacillus reuteri gehört zur gesunden Darmmikroflora von Vögeln und Säugetieren - auch der des Menschen.

L. reuteri Prodentis® BioGaia®



SchiffMedinstM III - Flottillenarzt Juliane Rehder Seite 23

L. reuteri Prodentis BioGaia

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

Umfangreiche Studienlage:

- Reduzierte Zahnfleischentzündungen, Zahnbelag, Zahnfleischbluten bei Schwangeren
- Größerer Therapieerfolg bei chronischer Parodontitis und Periimplantitis
- Reduzierte Kariesaktivität bei Kindern
- Erniedrigte Allergierate bei Säuglingen
- Abnahme der Krankheitstage bei Schichtarbeitern

SchiffMedinstM III - Flottillenarzt Juliane Rehder Seite 24

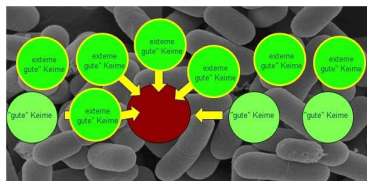
Lactobacillus reuteri

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

Hemmwirkung auf krankmachende Bakterien

z.B. auf:

- E. coli*,
- P. gingivalis*,
- S. mutans*,
- H. pylori*,
-



Anregung der körpereigenen Entzündungsabwehr

SchiffMedinstM III - Flottillenarzt Juliane Rehder Seite 25

Praktische Studiendurchführung

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

Studienaufbau

- Placebo-kontrolliert
- Doppelblind
- Randomisiert
- 2-Arm



SchiffMedinstM III - Flottillenarzt Juliane Rehder Seite 26

Praktische Studiendurchführung

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

Ablauf

- Screening im Rahmen der DFC-Untersuchung
- Max. 72 freiwillige Probanden
- Eingangsuntersuchung (21.-27. Mai)
 - 6 Wochen 2x täglich Pastille lutschen (42 Tage)
 - Extra „Zuckerportionen“ aufschreiben
- Vorstellungen im Schiffslazarett werden erfasst
- Abschlussuntersuchung (1.-7. Juli)
 - Zähne putzen und co - bitte alles wie immer

SchiffMedinstM III - Flottillenarzt Juliane Rehder Seite 27

Praktische Studiendurchführung

Marine
Wir. Dienen. Deutschland.

Klinische Untersuchung

5 Parameter an 6 repräsentativen Zähnen:

- Zahnbelag
- Zahnfleischbluten
- Zahnfleischtaschen
- Zahnfleischentzündung
- Knochenabbau

Mikrobiologische Proben:

- Speichel
- Zahnbelag
- Zahnfleischtasche
- Stuhl

SchiffMedinstM III - Flottillenarzt Juliane Rehder Seite 28

Ihre Fragen zur Studie beantworten wir gerne!

...und natürlich auch die Fragen, die Sie außerdem Ihrem Zahnarzt schon immer mal stellen wollten...

Sprechen Sie uns einfach an!

☺

Flottillenarzt Juliane Rehder
Hauptbootsmann Susanne Ehrhardt

SchiffMedinstM III - Flottillenarzt Juliane Rehder Seite 29

III.4 Probandeninformation zur Studie

Universitätsklinikum Würzburg



Zentrum für Zahn-, Mund- u. Kiefergesundheit
Abteilung für Parodontologie in der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
Leiter: Prof. Dr. U. Schlagenhaut

Probandeninformationen zur Studie:

"Einfluss des täglichen Konsums *L.reuteri*-haltiger Lutschtabletten auf die Mund- u. Allgemeingesundheit von Besatzungsmitgliedern eines Marineschiffes auf See".

(Impact of the daily consumption of *L.reuteri*-containing lozenges on oral and general health in crew members of a naval ship at sea) NAVLAC16.

(V1.2 vom 20.04.2016)

Sehr geehrtes Besatzungsmitglied,

bei der gerade erfolgten zahnärztlichen Überprüfung Ihrer Mundgesundheit zeigte sich, dass an einer oder mehreren Stellen in Ihrem Mund das Zahnfleisch auf schonende Sondierung eine Blutung zeigte. Dieser Befund an sich ist noch nicht schwerwiegend. Aber wenn diese oberflächlichen und in der Regel für Sie in keiner Weise schmerzhaften Entzündungen am Zahnfleisch über Monate und Jahre anhalten, besteht langfristig die Gefahr eines chronisch-entzündlichen Abbaus des Kieferknochens mit Lockerung und Verlust der betroffenen Zähne. Die Ursache für die Entstehung von Zahnfleischentzündungen liegt nach aktuellem Wissen in einer krankhaft erhöhten Entzündungsbereitschaft des Körpers. Diese führt zu chronischen Entzündungen am Zahnfleisch und einer starken Zunahme bakterieller Zahnbeläge, die durch ihre große Anzahl die Entzündungsreaktion noch weiter verstärken. Eine erhöhte Neigung zu Entzündungen im Mund kann zwar auch erblich mitbedingt sein, aber aktuelle Erkenntnisse aus wissenschaftlichen Studien zeigen, dass vor allem gesundheitsschädliche Lebensumstände wie Rauchen, falsche Ernährung und Stress die Entstehung chronischer Entzündungen im Mund fördern. Die tägliche Reinigung der Zähne von bakteriellen Zahnbelägen mit Hilfe von Zahnpasta, Zahnbürste, Zahnseide oder Interdentalbürstchen ist daher immer noch die wichtigste Basisprävention, für deren Optimierung wir Ihnen gerne die notwendige Anleitung geben. Da aber die Einhaltung einer optimalen Mundhygiene bei vielen Menschen aus vielfältigen Gründen nicht immer möglich ist, sind wir auf der Suche nach weiteren Alternativen, um Entzündungen im Mund auch durch andere, möglichst unschädliche und einfach anzuwendende Methoden vermindern zu können.

Eine ganze Reihe aktueller klinischer Studien offenbarte, dass der regelmäßige Konsum spezieller, so genannter probiotischer Bakterien aktiv das Wachstum entzündungsauslösender Problemkeime hemmen und die Stärke der Entzündungsreaktion am Zahnfleisch deutlich herabsetzen kann. Unter den untersuchten Bakterien zeigten spezifische Stämme der Laktobazillenart *Lactobacillus reuteri* ganz besonders vielversprechende Ergebnisse. Sie wurden mittlerweile an so unterschiedlichen Gruppen wie frühgeborenen Kindern, Schwangeren und Menschen mit schweren Zahnfleischerkrankungen klinisch erfolgreich getestet. Laktobazillen sind natürliche Bewohner der Mundhöhle, bilden aber auch beispielsweise die Masse der Milchsäure produzierenden Bakterien in jedem Joghurt. Probiotische Präparate mit *Lactobacillus reuteri* sind daher keine apothekenpflichtigen Medikamente sondern so genannte Nahrungsergänzungsmittel. In der aktuellen Studie werden die Studienteilnehmer 2 x täglich eine Lutschtablette konsumieren, die *L.reuteri*-Bakterien in konzentrierter Form enthält und als Präparat bereits seit einigen Jahren in Deutschland allgemein zugelassen und frei verkäuflich ist. Die gute Verträglichkeit der täglichen Anwendung von *L. reuteri* enthaltender Nahrungsergänzungsmittel ist durch die bereits erwähnten klinischen Studien an Erwachsenen sowie Kindern und Säuglingen sehr gut dokumentiert. Schwerwiegendere Nebenwirkungen außer individuellen Unverträglichkeiten gegenüber den allesamt als Nahrungsmittel bereits allgemein zugelassenen Inhaltsstoffen der Lutschtabletten wurden dabei nicht beobachtet.

Bei einer Einwilligung in die Studienteilnahme werden an sechs ausgewählten Zähnen im Mund der Entzündungsgrad des Zahnfleischs sowie die Stärke der bakteriellen Belägen dokumentiert und mit Hilfe kleiner steriler Papierstifte Bakterienproben aus entzündeten Zahnfleischtaschen sowie auch Speichel- und Stuhlproben entnommen. Diese Untersuchung entspricht mit Ausnahme der Entnahme der Bakterienproben einer üblichen zahnärztlichen Routinebefundung, wie Sie gerade bei Ihnen an Bord durchgeführt worden ist. Neben der Notwendigkeit etwas länger den Mund offen zu halten, kann durch die Sondierung der Zahnfleischtaschen sowie die Entnahme der Bakterienproben im Mund mittels der Papierstifte ein leichtes Druckgefühl am Zahnfleisch oder eine gewisse Empfindlichkeit der sondierten Zahnhälse auftreten.

Nach der Untersuchung werden wir Ihnen einen Vorrat an Lutschtabletten übergeben, von denen Sie in den darauf folgenden sechs Wochen morgens und abends jeweils eine bis zur völligen Auflösung im Mund lutschen sollen. Die Lutschtabletten haben einen

deutlichen, frischen Pfefferminzgeschmack. Da es sich bei unserer Studie um eine so genannte placebokontrollierte Doppelblindstudie handelt, erhält nur die Hälfte der Studienteilnehmer Lutschtabletten mit probiotischen Bakterien, die andere Hälfte erhält so genannte Placebo-Lutschtabletten, die absolut identisch schmecken, aber keine probiotischen Laktobazillen enthalten und von denen wir uns daher keine zusätzliche klinische Wirkung auf die Entzündung des Zahnfleisches erwarten. Ob Sie Lutschtabletten mit oder ohne Laktobazillen erhalten werden, bleibt aufgrund der Ausgabe der Proben mit Hilfe einer sogenannten Randomliste dem Zufall überlassen. Da es sich um eine doppelt verblindete Studie handelt, ist es selbst der Person, die Ihnen die Tabletten aushändigen wird, nicht bekannt, welche Art der Tabletten Sie bekommen werden. Welche Tabletten Sie erhalten haben, kann jedoch falls erforderlich jederzeit festgestellt werden, da die Gruppenzuordnung jedes Studienteilnehmers in versiegelten, aber während der Studiendauer der Studienärztin stets zugänglichen Umschlägen festgehalten wird. Um einen eventuellen Einfluss der individuellen Ernährung auf die Ergebnisse der Studie abschätzen zu können, werde alle Studienteilnehmer aufgefordert, einen von uns erstellten „Zuckerkalender“ zu führen, in welchem täglich die Art und Menge der neben der allgemeinen Truppenverpflegung konsumierten süßen Zwischenmahlzeiten festgehalten wird. Sechs Wochen nach der Erstuntersuchung und Aushändigung der Lutschtabletten erfolgt die Nachkontrolle, bei der erneut die zuvor beschriebenen Befunde erhoben und weitere Bakterienproben entnommen werden. Um den möglichen Einfluss des Konsums der experimentellen Lutschtabletten auf die Allgemeingesundheit zu analysieren, wird im Studienzeitraum vom Schiffsarzt festgehalten werden, wie häufig Sie während der Dauer der Studie seinen ärztlichen Rat gesucht haben und wie häufig dabei das Auftreten von Erkältungserkrankungen oder Magen-Darm-Beschwerden festgestellt wurde. Zudem sollten die Studienteilnehmer zur Nachkontrolle alle nicht verbrauchten Lutschtabletten sowie den ausgefüllten „Zuckerkalender“ abgeben.

Datenschutz

Die Erfassung und Verwendung der Studiendaten erfolgt gemäß den gesetzlichen Vorschriften zum Datenschutz und unter Beachtung der ärztlichen Schweigepflicht. Alle bei Ihnen erhobenen Befunde werden weder mit Ihrem Namen noch Ihrem Geburtsdatum gekennzeichnet, sondern mit einem für die Studie erstellten Buchstaben- und Zahlencode verschlüsselt, so dass Unbefugte keine Einsicht in die wahre Zuordnung nehmen können.

Der Zugang zu den Originaldaten und zum Verschlüsselungscode ist auf den Studienleiter Herrn Prof. Dr. Ulrich Schlagenhaut beschränkt. Die erhobenen Daten werden ohne Ihre ausdrückliche Einwilligung nur für die Zwecke der angeführten Studie verwendet. Eventuell noch vorhandene Reste der gewonnenen mikrobiologischen Proben werden nach Abschluss der Studie vernichtet. Alle Studienunterlagen werden für einen Zeitraum von zehn Jahren vom Studienzentrum Abteilung für Parodontologie des Universitätsklinikums Würzburg aufbewahrt.

Freiwilligkeit

Die Teilnahme an dieser Studie ist völlig freiwillig. Sie können ihre Einwilligung jederzeit und ohne Angabe von Gründen widerrufen, ohne dass Ihnen hieraus Nachteile entstehen. Im Fall eines Widerrufs der Teilnahme können, wenn Sie dies wünschen, die bei Ihnen erfassten Daten vernichtet werden.

Wir würden uns sehr freuen, wenn Sie sich für eine Teilnahme an unserer Untersuchung entscheiden und uns Ihre unterschriebene Einverständniserklärung zukommen lassen könnten.

Studienleitung:

Professor Dr. med. dent. Ulrich Schlagenhaut
Leiter der Abteilung für Parodontologie in der Poliklinik für
Zahnerhaltung und Parodontologie des Universitätsklinikums Würzburg
Pleicherwall 2, 97070 Würzburg
Tel: 0931-201-72620, Email: schlagenhaut@klinik.uni-wuerzburg.de

Weitere mit der Durchführung der Studie beauftragte Personen:

Frau Flottenarzt Juliane Rehder
Schiffahrtmedizinisches Institut der Marine
Kopperpähler Allee 120
24119 Kronshagen
Tel: 0431/7425-1626, Email: JulianeRehder@bundeswehr.org

Postanschrift:

Abteilung für Parodontologie
in der Poliklinik für Zahnerhaltung u. Parodontologie
Universitätsklinikum Würzburg
Pleicherwall 2
97070 Würzburg

III.5 Einverständniserklärung zur Studienteilnahme

Universitätsklinikum Würzburg



Zentrum für Zahn-, Mund- u. Kiefergesundheit
Abteilung für Parodontologie in der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
Leiter: Prof. Dr. U. Schlagenhaut

Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie:

**"Einfluss des täglichen Konsums *L.reuteri*-haltiger Lutschtabletten auf die Mund- u. Allgemeingesundheit von Besatzungsmitgliedern eines Marineschiffes auf See".
(Impact of the daily consumption of *L.reuteri*-containing lozenges on oral and general health in crew members of a naval ship at sea (NAVLAC16).**

(V1.2 vom 20.04.2016)

Name, Vorname

Ich bin über den Zweck und die Bedeutung der Studienteilnahme sowie alle sich für mich daraus ergebende Vorteile und Risiken aufgeklärt worden. Die schriftliche Teilnehmerinformation habe ich gelesen und verstanden. Alle meine Fragen sind zu meiner Zufriedenheit beantwortet worden und ich hatte genug Zeit, um meine Entscheidung zur Studienteilnahme zu überdenken und frei zu treffen. Ich stimme der Verwendung der von mir im Rahmen der Studie gewonnenen Daten und mikrobiologischen Proben gemäß den Ausführungen des Informationsblatts sowie der geltenden Datenschutzbestimmung zu.

Ich weiß, dass meine Teilnahme an dieser Studie freiwillig ist und dass ich diese Einverständniserklärung jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne für mich dadurch entstehende Nachteile widerrufen kann.

Eine Kopie der Teilnehmerinformation sowie der Einwilligungserklärung habe ich erhalten.

Ort, Datum,

Unterschrift Studienteilnehmer/in

Erklärung durch den aufklärenden Arzt

Ich bestätige hiermit, dass ich den/die Teilnehmer/in mündlich und schriftlich über die Ziele, den Ablauf der Studie, über die zu erwartende Wirkungen, über mögliche Vor- und Nachteile sowie über eventuelle Risiken informiert habe. Der/die Patient/in hat seine/ihre Teilnahme durch persönliche Unterschrift mit Datum bestätigt.

Ort, Datum

Unterschrift Prüfarzt

III.6 Herstellernachweis der Studienlutschtabletten

| BioGaia | | Certificate of Analysis | Doc. No: COA2016-0360 |
|---|--|---------------------------|-----------------------|
| | | | Page: 1/1 |
| BioGaia ProDentis lozenges 28 | | Article No: 6316 | |
| Batch No.: | 6LQP001 | | |
| Packaging date: (DD.MM.YYYY) | 08.02.2016 | | |
| Expiry date: (MM.YYYY) | 08.2017 | | |
| QUALITY CONTROL TESTS | | | |
| | Specification ¹⁾ | Test method ¹⁾ | Result ¹⁾ |
| Activity | | | |
| <i>L. reuteri</i> DSM 17938: | ≥ 5 · 10 ⁸ CFU/lozenge | ISO 7889 (modified) | 7 · 10 ⁸ |
| <i>L. reuteri</i> ATCC PTA 5289: | ≥ 5 · 10 ⁸ CFU/lozenge | ISO 7889 (modified) | 1 · 10 ⁹ |
| Appearance: | White lozenge with blue and beige spots. | Visual | conforms |
| Sensory: | Mint | Sensory | conforms |
| Water activity: | ≤ 0.20 | As applicable | 0.04 |
| 2016-03-02 | | | |
| Dan Nilsson, Quality Assurance Specialist | | | |
| ¹⁾ See batch disposition BD2016-0359 | | | |
| Distribution: Originals, incl attachments is filed by BioGaia QA | | | |
| Contact: BioGaia AB Kungsbrogatan 3A P.O. Box 3242 SE-103 64 Stockholm Sweden Phone: +46 (0)8 555 293 00 Fax: +46 (0)8 555 293 01 Email: info@biogaia.se | | | |

BioGaia Placebo lozenges, EP quality, 28 container

Article No: 6046

| | |
|--|---|
| Batch No.: | 2LQP002 |
| Packaging date: (DD.MM.YYYY) | 26.01.2012 |
| Expiry date: (MM.YYYY) | 01.2017 |
| Storage conditions: | The product shall be stored at room temperature (max. 25 °C). The product shall not be stored below 0 °C. |

QUALITY CONTROL TESTS

| | Release limit ¹⁾ | Test method ¹⁾ | Result ²⁾ |
|--|--|---------------------------|----------------------|
| Activity | | | |
| <i>L. reuteri</i> : | ≤ 2000 CFU/lozenge | QCME004/QCME104 | < 1000 |
| Appearance: | White lozenge with blue and beige spots. | QCME207 | conforms |
| Sensory: | Mint | QCME208 | conforms |
| Water activity: | ≤ 0.2 | QCME201 | 0.04 |
| Physical analysis³⁾: | | | |
| Average weight | 800 mg ± 5% | Ph Eur | 800 |
| Friability | ≤ 1% | Ph Eur | 0.7 |
| Microbiological specification⁴⁾: | | | |
| Total aerobic bacteria | ≤ 10 ³ CFU/g | Ph Eur | < 10 |
| Yeast and Mould | ≤ 10 ² CFU/g | Ph Eur | < 10 |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | ≤ 10 ² CFU/g | Ph Eur | < 10 |
| <i>E. coli</i> | Neg. in 1 g | Ph Eur | Neg. in 1 g |
| Salmonellae | Neg. in 10 g | Ph Eur | Neg. in 10 g |
| <i>S. aureus</i> | Neg. in 1 g | Ph Eur | Neg. in 1 g |

2014-03-18

Dan Nilsson, Quality Engineer

¹⁾ See specification PTSP6046A8

²⁾ See batch disposition BD2012-0323

³⁾ Results from QC analyses made on bulk lozenges

⁴⁾ The results are interpreted following Ph Eur 2.6.12 "Total viable aerobic count"

Distribution:

Originals, incl attachments is filed by BioGaia QA

Contact:

BioGaia AB | Kungsbroplan 3A | P.O. Box 3242 | SE-103 64 Stockholm | Sweden
Phone: +46 (0)8 555 293 00 | Fax: +46 (0)8 555 293 01 | Email: info@biogaia.se

III.7 Statistisches Analyseprotokoll

STATISTICAL ANALYSIS PLAN

The NAVLAC16 Study

A prospective, randomised, controlled, double-blind study

Principal Investigator: Prof. Dr. Ulrich Schlagenhauf
Department of Periodontology
University Hospital Würzburg

Biometrician: Prof. Dr. Dr. Götz Gelbrich
Institute of Clinical Epidemiology and Biometry
University of Würzburg

Date: 24.10.2016

Status: Final 1.0

The content of this document is confidential and may not be communicated to uninvolved persons or institutions.

This document is property of the Universitätsklinikum Würzburg (UKW) and the Institute of Clinical Epidemiology and Biometry, University of Würzburg (ICE-B). All information contained in it is strictly confidential and is to be used only in connection with matters authorised by UKW and ICE-B. No part is to be disclosed to other persons or institutions without prior written permission by UKW and ICE-B.

TABLE OF CONTENTS

| | Page |
|---|----------|
| SIGNATURES | 4 |
| 1 GENERAL INFORMATION | 5 |
| 1.1 Study design | 5 |
| 1.2 Unblinding of the study treatment | 5 |
| 2 OUTCOME MEASURES AND ANALYSIS | 6 |
| 2.1 Intention to treat..... | 6 |
| 2.2 Baseline data | 6 |
| 2.3 Measurements for the main study outcomes..... | 6 |
| 2.4 Primary outcome and analysis | 6 |
| 2.5 Secondary analysis of primary outcome | 7 |
| 2.6 Secondary outcome..... | 7 |
| 2.7 Subgroup analyses | 7 |
| 2.8 Other analyses | 7 |

1 GENERAL INFORMATION

1.1 Study design

The NAVLAC16 study is a prospective, randomised, placebo controlled, double-blind study. Voluntary staff members of a ship of the German Navy were randomised to receive *L. reuterii* lozenges or placebo during a training mission.

1.2 Unblinding of the study treatment

This analysis plan will be completed by the study biometrician without knowledge of the group assignment of the participating individuals. The analysis plan will be approved by the principal investigator and the biometrician. After approval, the group assignment will be transmitted to the biometrician for evaluation of the data. No changes to this analysis plan may be made thereafter. All analyses defined after unblinding of the group assignment should be considered to be non-confirmatory.

2 OUTCOME MEASURES AND ANALYSIS

2.1 Intention to treat

All analyses will follow the intention-to-treat principle unless specified otherwise. Subjects will be evaluated in the group they have been randomised for, regardless of the type and frequency of the treatment actually given.

2.2 Baseline data

Baseline data should be presented as frequencies and percentages for categorical data and means and standard deviations for quantitative data. Presentation will be given for the total sample and the treatment groups. No P-values will be provided, as the group assignment was random, and hence, all differences between groups resulted from chance. Thus, there is no null hypothesis to be tested.

2.3 Measurements for the main study outcomes

The measurements relevant for the main outcomes are bleeding on probing and pocket depths of six pockets (three vestibular, three lingual) of the Ramfjord teeth at baseline and follow-up after six weeks. The Ramfjord teeth are the following (substitutes if missing given in parentheses): 16 (17), 21 (11), 24 (25), 36 (37), 41 (42), 44 (45).

2.4 Primary outcome and analysis

The primary outcome is the percentage of pockets with bleeding on probing. It is computed per subject as the number of pockets with bleeding on probing divided by the number of examined pockets x100%. Usually, there are 36 pockets to be examined. If a Ramfjord tooth and its substitute are missing, the number of pockets under consideration is accordingly smaller.

Primary analysis will be analysis of covariance with the percentage of bleeding pockets at follow-up as outcome, the percentage of bleeding pockets at baseline as covariate, and the treatment as group variable. The effect estimator will be a difference of percentages with 95% confidence interval.

2.5 Secondary analysis of primary outcome

The secondary analysis will be carried out on pockets as statistical units. The outcome is bleeding on probing (yes or no). A logistic model using generalized estimating equations will be applied. The target variable is bleeding at follow-up, the group variable is the treatment, bleeding at baseline is a co-factor, and the subject and the tooth are variables determining the dependencies between statistical units. The effect estimator will be an odds ratio for bleeding with verum vs. placebo.

2.6 Secondary outcome

The secondary outcome will be pocket depth. The first analysis on the secondary outcome is the average pocket depth calculated per subject. It will be evaluated by analysis of covariance. The secondary analysis of pocket depth is carried out with pockets as statistical units, using generalized estimating equations.

2.7 Subgroup analyses

Subgroup analyses will be performed for the primary and secondary endpoint in case the secondary (pocket based) analyses specified above yielded a significant result. Generalized estimating equations will be applied for a pocket based analysis.

The following subgroup variables will be considered:

- tooth (incisor, premolar or molar)
- lower or upper jaw
- vestibular or lingual location of the pocket
- distal, mesio-distal or mesial location of the pocket

2.8 Other analyses

All other analyses, carried out for other endpoints (attachment loss, microbiological data etc.) or using other methods, will be considered non-confirmatory. No pre-specification is made for the mode of analysis.

III.8 LOCF-Analyse

Table S1: Characteristics of participants who were included into the LOCF analysis (i.e. who underwent the interim examination after 2 weeks or the final examination after 6 weeks).

| Variable | All participants | Placebo group | Verum group |
|--|------------------|---------------|-------------|
| | n=68 | n=35 | n=33 |
| Age [y] – mean (SD) | 27.0 (5.0) | 26.8 (4.4) | 27.3 (5.6) |
| Female sex – no. (%) | 4 (6) | 2 (6) | 2 (6) |
| Body mass index [kg/m ²] – mean (SD) | 25.6 (2.7) | 25.8 (2.7) | 25.4 (2.7) |
| Smoker – no. (%) | | | |
| No | 18 (26) | 9 (26) | 9 (27) |
| Yes, ≤5 pack-years | 19 (28) | 9 (26) | 10 (30) |
| Yes, >5 pack-years | 31 (46) | 17 (49) | 14 (42) |
| Education – no. (%) | | | |
| Secondary school, lower track | 9 (13) | 5 (15) | 4 (12) |
| Secondary school, higher track | 44 (66) | 23 (68) | 21 (64) |
| University-entrance diploma | 14 (21) | 6 (18) | 8 (24) |
| Not specified | 1 (1) | 1 (3) | 0 |
| Service grade – no. (%) | | | |
| Seaman | 24 (35) | 12 (34) | 12 (36) |
| Petty officer 2 nd grade | 22 (32) | 10 (29) | 12 (36) |
| Petty officer 1 st grade | 19 (28) | 12 (34) | 7 (21) |
| Officer | 3 (4) | 1 (3) | 2 (6) |
| Time to follow-up [d] – mean (SD) | 38.8 (8.0) | 38.8 (8.1) | 38.8 (8.1) |
| Number of tablets taken – mean (SD) | | | |
| Total | 64.6 (18.5) | 63.5 (18.8) | 65.8 (18.4) |
| Per day of study participation | 1.68 (0.34) | 1.65 (0.37) | 1.70 (0.31) |

SD: standard deviation.

Percentages of categories of a variable may not add up to 100% due to rounding.

Smoking: A pack-year of cumulative smoking dose means smoking one pack of cigarettes for one year or an equivalent of other tobacco products.

Education: The German education system secondary school has two tracks of the secondary school, "Hauptschule" (lower) and 'Realschule' (higher).

Table S3: Clinical outcome measures (last measurement). Follow-up values are the measurements obtained after 6 weeks for subjects with complete follow-up, and the measurements from the 2-week interim examination were carried forward for those who had the interim follow-up examination only. Within-group changes are the changes from baseline to follow-up in the placebo and the verum group. Between-group changes were assessed by analysis of covariance, adjusting the difference between the verum and the placebo group at follow-up for the baseline values. P-values refer to the null hypotheses of no change within groups or of no difference in changes between groups. Means and percentages within subjects refer to the average of the 36 pockets of the Ramfjord teeth.

| Variable | Placebo group n=35 | Verum group n=33 | Between-groups difference (ANCOVA) |
|-------------------------------|-----------------------|---------------------|---------------------------------------|
| % pockets bleeding on probing | | | |
| Baseline – mean (SD) | 37 (20) | 41 (22) | |
| Follow-up – mean (SD) | 42 (17) | 10 (13) | |
| Change – mean (95% CI) | +5 (–0... +10) | –31 (–38...–25) | –34 (–40...–28) |
| Between-group P-value | | | <0.001 |
| Within-group P-value | 0.06 | <0.001 | |
| Mean pocket depth [mm] | | | |
| Baseline – mean (SD) | 1.7 (0.4) | 1.7 (0.6) | |
| Follow-up – mean (SD) | 2.0 (0.5) | 1.5 (0.4) | |
| Change – mean (95% CI) | +0.2 (+0.1... +0.3) | –0.3 (–0.4...–0.1) | –0.5 (–0.6...–0.4) |
| Between-group P-value | | | <0.001 |
| Within-group P-value | <0.001 | <0.001 | |
| Mean attachment loss [mm] | | | |
| Baseline – mean (SD) | 1.8 (0.5) | 1.8 (0.6) | |
| Follow-up – mean (SD) | 2.1 (0.5) | 1.6 (0.4) | |
| Change – mean (95% CI) | +0.3 (+0.2... +0.4) | –0.2 (–0.4...–0.1) | –0.5 (–0.7...–0.4) |
| Between-group P-value | | | <0.001 |
| Within-group P-value | <0.001 | <0.001 | |
| Mean gingiva index | | | |
| Baseline – mean (SD) | 1.3 (0.4) | 1.3 (0.5) | |
| Follow-up – mean (SD) | 1.5 (0.4) | 0.5 (0.4) | |
| Change – mean (95% CI) | +0.1 (+0.0... +0.2) | –0.8 (–0.9...–0.6) | –0.9 (–1.1...–0.8) |
| Between-group P-value | | | <0.001 |
| Within-group P-value | 0.01 | <0.001 | |
| % pockets with plaque | | | |
| Baseline – mean (SD) | 88 (11) | 83 (11) | |
| Follow-up – mean (SD) | 94 (10) | 75 (15) | |
| Change – mean (95% CI) | +5 (+2... +9) | –7 (–13...–2) | –15 (–21...–10) |
| Between-group P-value | | | <0.001 |
| Within-group P-value | 0.003 | 0.006 | |

Danksagung

Zu allererst danke ich Herrn Prof. Dr. Schlagenhauf ganz herzlich für ALLES. Ich bedanke mich dafür, dass Prof. Dr. Schlagenhauf sich auf die Durchführung der vorliegenden Studie mit mir als einer ihm vollständig unbekanntem Person überhaupt eingelassen hat. Er hat mir damit die Möglichkeit eröffnet, wissenschaftliches Arbeiten an diesem unglaublich spannenden Thema lernen zu können. Während der gesamten Zeit der Vorbereitung und Durchführung der klinischen Untersuchungen hat mir Prof. Dr. Schlagenhauf jederzeit mit Rat, Tat und einem offenen Ohr zur Seite gestanden und mich auch im weiteren Verlauf bei der Erstellung dieser Arbeit, beginnend mit dem Ausnahmeantrag und endend mit der Übernahme des Referates, fortdauernd, jederzeit und immer unglaublich geduldig, freundlich und konstruktiv unterstützt.

Überdies danke ich Prof. Dr. Dr. Gelbrich, stellvertretender Leiter Lehrstuhl für Klinische Epidemiologie und Biometrie der Universität Würzburg, für die kompetente Datenauswertung und Statistik.

Dem Leitenden Zahnarzt der Bundeswehr, Herrn Flottenarzt Dr. Bieber, bin ich zu großem Dank verpflichtet, weil ich ohne ihn nicht einmal darüber nachgedacht, geschweige denn dieses Projekt in Angriff genommen hätte. Nach dem „Verursacherprinzip“ war Flottenarzt Dr. Bieber in der Folge dann auch immer als Ansprechpartner und Ratgeber für mich da und hat mir selbst dann noch zugehört, wenn alle anderen es schon lange nicht mehr hören konnten.

Mein aufrichtiger Dank geht an die Einsatzflottille 2, die mein Projekt von Anfang an unterstützt hat. Die Besatzung der Fregatte *Brandenburg* hat mich bereitwillig an Bord aufgenommen und Unmögliches möglich gemacht, obwohl das Schiff gerade in dieser Zeit auch ohne meine Studie bereits grenzwertig belastet war. Ausdrücklich danke ich meinen Probanden, ohne deren freiwillige Bereitschaft und engagierte Teilnahme ich keine Studie hätte durchführen können.

Eine viermonatige Kommandierung vom Sanitätsunterstützungszentrum Kiel zum Schiffahrtmedizinischen Institut der Marine war das Fundament zur berufsbegleitenden Realisierung eines solchen Projekts. Ich weiß das sehr zu schätzen und danke meinem Dienststellenleiter, Herrn Oberstarzt Dr. Diller,

dafür, dass er ohne Gegenleistung auf mich als Abteilungsleiterin für diesen Zeitraum verzichtet hat. Genauso danke ich dem Institutsleiter, Herrn Flottenarzt Dr. Neidhardt, der sich nach Darstellung der ersten „Idee des Gefechts“ sofort bereit erklärt hat, mein Studienvorhaben aktiv zu unterstützen und zu fördern. Der Abteilungsleiter Forschung und Lehre, Herr Flottenarzt Prof. Dr. Koch, und seine Mitarbeiter haben mir stets mit ihrem Fachwissen, aber auch mit viel Menschlichkeit zur Seite gestanden. Dafür meinen herzlichen Dank. Meiner Studienassistentin, Frau Hauptbootsmann Ehrhardt, gebührt mein ganz persönlicher Dank, weil sie einen nicht unerheblichen Anteil am Gelingen der klinischen Untersuchungen an Bord unter z.T. erheblich erschwerten Bedingungen hatte. Wir waren wie immer ein perfektes Team.

Nicht zuletzt zolle ich meiner Familie universelle Anerkennung, die in Gemeinschaftsleistung nicht nur meine Abwesenheit für die klinischen Untersuchungen an Bord gelungen kompensiert hat, sondern mir auch im Anschluss die notwendigen Freiräume zum Schreiben dieser Arbeit ermöglicht und mich zudem in dieser Zeit tapfer ertragen hat. Ich mach´s wieder gut. Versprochen!

