

(19)



REPUBLIK
ÖSTERREICH
Patentamt

(10) Nummer:

AT 409 587 B

(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: A 1009/2001

(51) Int. Cl.⁷: **A61K 35/78**

(22) Anmeldetag: 28.06.2001

A61K 35/74

(42) Beginn der Patentdauer: 15.02.2002

(45) Ausgabetag: 25.09.2002

(56) Entgegenhaltungen:

WO 98/43489A1 DE 29819082U1
DE 10025867A1

(73) Patentinhaber:

LUBEC GERT DR.
A-1220 WIEN (AT).

(54) VERWENDUNG VON KOMBUCHA

(57) Die Erfindung betrifft die Verwendung von Kombucha zur Herstellung einer Präparation zur Vorbeugung oder Behandlung von Zahnerkrankungen.

AT 409 587 B

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Kombucha.

Kombucha ist ein Teegetränk, bei dem Kohlehydrate zunächst durch den Zusatz von Zygosaccharomyces und Acetobacter vergoren werden. Nach Pasteurisieren und Zentrifugieren wird eine weitere bakterielle Kultur, nämlich Lactobacillus casei zugesetzt und das Produkt schließlich, nach vollendeter Gärung, unter CO₂-Zugabe abgefüllt.

Die gesundheitsfördernden Wirkungen von Kombucha sind im Wesentlichen auf die zugesetzten Mikroorganismen sowie auf ihre Stoffwechselprodukte zurückzuführen. Insbesondere Lactobacillus casei hat immunstimulierende Wirkung, die in der Literatur sowohl für lebende als auch für tote Lactobacillen beschrieben worden ist (Sato (1984); Nomoto et al. (1985); Miake et al. (1985); Perdigon et al. (1986); Perdigon et al. (1988); Saito et al. (1987); Miettinen et al. (1996)) und die in früheren Gutachten auch für das Getränk Kombucha nachgewiesen wurde (Höger (1998) und (1999a)).

Die bei der Vergärung entstehenden Stoffwechselprodukte sind insbesondere die in größerer Menge vorliegenden freien Fettsäuren. Insgesamt enthält Kombucha 3,5 g titrierbare Säuren je Liter, darunter vor allem Milchsäure (1,5 g/l), Essigsäure (0,9 g/l) und Glukonsäure (1,0 g/l) sowie Glukuronsäure (0,15 g/l). Vor allem über Essigsäure liegen tierexperimentelle Untersuchungen über die Bedeutung für den gesunden Stoffwechsel vor (Salminen et al. (1998)). Durch die freien organischen Säuren sind sowohl direkte Wirkungen auf das Milieu im Darm und damit auf das Gleichgewicht der Darmflora denkbar als auch mittelbare, die über die Wirkungen auf die Zellproliferation der Darmschleimhaut gehen. Organische Säuren als Stoffwechselprodukte plaquebildender Bakterien sind aber auch ursächlich für die Entstehung von Karies. In vitro-Versuche, bei denen intakte isolierte Zähne in ein angesäuertes Gel gesteckt wurden, zeigen das hohe schmelzschädigende Potential schwacher organischer Säuren wie Milchsäure und Essigsäure (Shellis (1984), Feagin & Graves (1988)).

Karies ist eine infektiöse und übertragbare Erkrankung. Neben dem Vorhandensein cariogener Bakterien spielt die Zusammensetzung der Ernährung als Substrat dieser Organismen als auch eventuelle hemmende Faktoren in der Nahrung eine wesentliche Rolle (Marsh (1995)).

Die Bakterien befinden sich in einem von ihnen produzierten Biofilm (Plaque). Die Haftung an den Zähnen ist abhängig von extrazellulärer Synthese von Polysacchariden, die in erster Linie durch die Zufuhr von Saccharose (Sucrose) begünstigt werden, wie tierexperimentell und durch epidemiologische Studien beim Menschen nachgewiesen wurde. (Sheiham (1987), Bowden & Li (1997)). Die Plaque-bildenden Bakterien metabolisieren Kohlehydrate ferner zu kurzkettigen Fettsäuren, die den pH-Wert des Biofilms herabsetzen und zu einer Entkalkung des Zahnschmelzes führen. Dieser Abfall des pH-Wertes ist bei aller kohlehydrathaltiger Nahrung nachweisbar, doch besteht keine direkte Korrelation zwischen Säurebildung und Schmelzschädigung (Krasse (1985)). So sind die stärkehaltigen Nahrungsmittel Reis und Bohnen kaum cariogen, während reiner Zucker die stärkste Auswirkung zeigt.

Parodontopathien ist ein Sammelbegriff für alle Erkrankungen des Zahnhalteapparates, wobei man nach dem primären Entstehungsort zwischen marginalen und apikalen Parodontopathien unterscheidet. Apikale Parodontopathien sind entzündliche Prozesse im Bereich der Wurzelspitze eines Zahnes, der auf die Wurzelhaut (Periodontum) und die knöcherne Umgebung übergreift. Ursache ist meist infektiös durch Pulpitis oder abgestorbene (gangränöse) Pulpa. Marginale Parodontopathien sind entzündliche, durch bakterielle Beläge verursachte Erkrankungen aller Anteile des marginalen Parodontiums (Gingiva, Desmodont, Wurzelement und Alveolarknochen) mit fortschreitendem Verlust von Stützgewebe. Die marginale Parodontitis kann einzelne, mehrere oder alle Zähne betreffen, wobei unterschiedliche Stadien der Krankheit vorliegen können. Man unterscheidet die superficiale Form (Verlust des Stützgewebes bis zu einem Drittel der Wurzellänge) und die profunde Form (Verlust von mehr als einem Drittel der Wurzellänge) der marginalen Parodontitis.

In vitro-Versuche mit säurehaltigen Gelen können helfen, z.B. die Schutzfunktion verschiedener chemischer Verbindungen gegenüber der Entkalkungsaktivität zu prüfen. Sie können jedoch nicht ohne weiteres zur klinischen Bewertung herangezogen werden, da damit nicht die Komplexität des oralen Ökosystems simulierbar ist. So werden weder die Pufferfunktion des Speichels berücksichtigt noch die Nährstoffbedingungen, die zur Plaquebildung nötig sind.

Deshalb wurden verschiedene Tiermodelle entwickelt, die üblicherweise aus einer Kombination

von cariogenen Keimen und einer zu prüfenden Diät oder Nahrungskomponente bestehen. Als Positivkontrollen werden bekannt cariogene Diäten (meist durch Sucrosezusatz) eingesetzt. Die in erster Linie für diese Versuche zum Einsatz kommenden Spezies sind Ratte und Maus. Sie unterscheiden sich in der Anzahl und zum Teil auch in der Anatomie der Zähne vom Menschen. Die Incisivi sind als Nagezähne ausgebildet, die zeitlebens nachwachsen. Dagegen sind die je drei Molaren (Backenzähne) im Ober- und Unterkiefer schmelzfaltige, zusammengesetzte Zähne mit zwei Wurzeln und unterliegen altersbedingten Abnutzungserscheinungen (Habermehl (1980)). Diese waren in der Auswertung zu berücksichtigen.

Unter bestimmten Umständen können Nager sowohl spontan als auch induziert Karies an den Molaren entwickeln und die Ergebnisse korrelieren gut mit den epidemiologischen Studien am Menschen. Wie beim Menschen ist die Anwesenheit cariogener Bakterien eine Voraussetzung. Bei Ratten werden im Tierversuch v. a. *Streptococcus mutans* und *Str. sobrinus* eingesetzt. Cariogen ist auch der bei Mäusen vorkommende *Enterococcus faecalis* (Nakano (1989)).

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht darin, eine Präparation zur Verhinderung oder Behandlung von Zahnerkrankungen zur Verfügung zu stellen, welche einfach herstellbar ist und vorzugsweise als einfaches Lebensmittel, insbesondere in flüssiger Form, zur Verfügung gestellt werden kann. Diese Präparation sollte die gängigen Zahnerkrankungen, wie Karies oder Parodontose, wirksam verhindern oder behandeln können.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch die Verwendung von Kombucha zur Herstellung einer Präparation zur Verhinderung oder Behandlung von Zahnerkrankungen.

Oggleich für Kombucha zwar eine Reihe von positiven Wirkungen beschrieben ist, war die Eignung von Kombucha zur effektiven Prophylaxe und Therapie von Zahnerkrankungen bislang im Stand der Technik weder beschrieben noch nahegelegt worden. Diese Eignung ist auch aufgrund der Inhaltsstoffe (speziell Kohlehydrate und organische Säuren) völlig überraschend, da gerade die aufgezählten Inhaltsstoffe eher als Förderer von Zahnerkrankungen, insbesondere von Karies und Parodontose, angesehen werden.

Bevorzugterweise wird aber die vorliegende Erfindung gerade zur Behandlung oder Prophylaxe von Parodontopathien, insbesondere marginalen Parodontopathien, und Zahnkaries eingesetzt, da sie sich bei diesen Zahnerkrankungen besonders bewährt hat.

Es zeigte sich, dass mit der vorliegenden Erfindung vor allem Zahnerkrankungen im Bereich des Zahnschmelzes, des Zahnfleisches, des Zements, im Bereich des Alveolenknochens, insbesondere am Alveolar-Fortsatz, sowie des Parodontiums wirksam behandelt oder verhindert werden können.

Kombucha kann erfindungsgemäß vor allem auch gezielt zur Verhinderung der Anhaftung von infektiösen Keimen an Zähne und Zahnfleisch eingesetzt werden. Es zeigte sich, dass erfindungsgemäß auch schwere Formen der Karies bzw. Parodontose, bei welchen sogar der Knochen substantiell angegriffen wurde (in der Kontrollgruppe), verhindert werden konnten.

Überraschenderweise stellte sich Kombucha als Mittel zur Verhinderung oder Behandlung von Zahnerkrankungen, insbesondere als Mittel mit anticariogener oder cariostatischer Wirkung, heraus, obgleich in Kombucha doch erhebliche Mengen an Kohlehydraten und schwach dissoziierenden organischer Säuren, wie Milchsäure oder Essigsäure, vorhanden sind. Es musste daher prima facie angenommen werden, dass eine Dauerverabreichung von Kombucha als alleinige Flüssigkeitszufuhr einen Karies verursachenden oder Karies fördernden Effekt aufweist. Im Zuge von Untersuchungen, die sich mit dieser Frage beschäftigen, stellte sich aber überraschenderweise heraus, dass Kombucha gerade den gegenteiligen Effekt zeigt und eine anticariogene bzw. cariostatische Wirkung aufweist, wie im zuvor erwähnten gut korrelierenden Tiermodell mit den üblichen anticariogenen oder cariostatischen Mitteln.

Ein Beispiel für ein derartiges zum Stand der Technik gehörendes anticariogenes oder cariostatisches Mittel ist angesäuertes Trinkwasser. Ein mit Salzsäure oder mit Schwefelsäure angesäuertes Trinkwasser im Bereich von pH 2,5 bis 3,0 wird seit etwa 30 Jahren routinemäßig in der Versuchstierhaltung eingesetzt, um Keimwachstum in Tränkfラスchen zu minimieren bzw. die Verschleppung von Keimen über automatischen Tränken zu verhindern (Thunert und Heine (1975); Tober-Meyer & Bienik (1981), Tober-Meyer et al. (1981). In diesem pH-Bereich sind keine Zahnschäden zu befürchten (Tolo und Erichsen (1969)) während tiefere pH-Werte (2,2 und weniger) zu Schmelzschädigung führt (Karle et al. (1980)) sowie Auswirkungen auf physiologische Parameter

hat (Hall et al. (1980), Hermann et al. (1982)). Erwartungsgemäß zeigten sich in der Kontrollgruppe auch nach mehr als einem Jahr keine Karieszeichen. Kombucha hat einen pH-Wert von ca. 3,5 und liegt also deutlich über dem kritischen Wert. Trotzdem wäre eine Zahnschmelzschädigung denkbar, da sich in vitro schwach dissoziierende organische Säuren bei gleichem pH-Wert als
 5 schädigender erweisen als anorganische (McClure & Rucicka (1946) zit. in Toto & Erichsen (1969)), und in der Plaque mit Milchsäure und Essigsäure die gleichen Stoffwechselprodukte entstehen wie in Kombucha enthalten sind. Die in Kombucha enthaltenen Säuremengen sind etwas geringer als die bei in vitro-Versuchen verwendeten (17 mM Milchsäure und 15 mM Essig-
 10 säure gegenüber 75 mM und 25 mM bei Feagan und Graves, (1988)). Ein derartiges angesäuertes Trinkwasser wurde auch bei den vorliegenden erfindungsgemäßen Versuchen als Kontrolle herangezogen. Es zeigte sich dabei, dass Kombucha eine anticariogene bzw. cariostatische Wirkung aufweist, die zumindest derjenigen von angesäuertem Trinkwasser entspricht. Damit kann gezeigt werden, dass sich Kombucha hervorragend zur Verhinderung oder Behandlung von Karies eignet.

Vorzugsweise wird erfindungsgemäß eine wässrige Kombucha-Lösung hergestellt. Demgemäß können kommerziell erhältliche Kombucha-Präparate, die bereits im Lebensmittelhandel weit verbreitet sind, für den erfindungsgemäßen Zweck eingesetzt werden. Vorzugsweise wird demgemäß Kombucha in filtrierter oder zentrifugierter Form zur Verfügung gestellt, ohne dass dabei noch
 15 wesentliche Gehalte an Mikroorganismen enthalten sind.

Vorzugsweise wird erfindungsgemäß Kombucha eingesetzt, worin 0,5 bis 1,5 g/l Essigsäure, 20 0,5 bis 3 g/l Milchsäure und 0,2 bis 2 g/l Glukonsäure enthalten sind. Ebenfalls bevorzugt wird Kombucha eingesetzt, worin 3 bis 15 g, insbesondere 5 bis 20 g, Kohlehydrate pro 100 ml enthalten sind. Trotz dieses Gehaltes an organischen Säuren bzw. Kohlehydraten tritt überraschenderweise die erfindungsgemäße Wirkung ein. Für die unerwartet fehlende Cariogenität von Kombucha könnten zwei Ursachen denkbar sein: Erstens könnten die enthaltenen organischen Säuren cari-
 25 ostatische Wirkungen haben. Diese ist aber bisher nur für Monolaurinsäure und Nonanoische Säure beschrieben worden (Williams et al. (1982)), nicht für die in Kombucha enthaltenen Säuren. Wahrscheinlicher ist, dass die immunstimulierende Wirkung von Kombucha das orale Ökosystem beeinflusst. In einer früheren Untersuchung wurde eine deutliche Erhöhung der IgA im Stuhl von mit Kombucha getränkten Tieren im Vergleich zu Kontrollen nachgewiesen [185 mg/l \pm 35 mg
 30 gegenüber 71 mg/l \pm 41 ($p < 0,001$), Höger (1999a)]. IgA werden auch über den Speichel ausgeschieden. In Immunisierungsversuchen mit Str. mutans wurden trotz gleicher oraler Bakterienzahl geringere Zahnschmelzläsionen bei immunisierten Ratten gefunden. Das dürfte auf eine durch Speichel-IgA bedingte geringere Adhäsion der Keime an den Zähnen zurückzuführen sein (Fontana et al. (1999)). Ein ähnlicher Mechanismus ist auch für E. faecalis und durch Kombucha erhöhte
 35 IgA-Werte denkbar.

Weiters gibt es auch epidemiologische Hinweise, dass nicht Säuren wie Essigsäure oder Milchsäure selbst an sich cariogen wirken, da im Speichel von Personen ohne Karies höhere Mengen an Essigsäure gefunden wurden als bei Personen mit Karies. Das Essigsäure-Acetat-System wirkt mit seiner Pufferfunktion als Schutzmechanismus gegen die Milchsäurewirkung im Biofilm (Coogan
 40 und Motlekar, (1996)). Andere Untersuchungen geben sogar Hinweise, dass bestimmte organische Säuren (längerkettige Fettsäuren) cariostatisch wirken (Williams et al. (1982)). Der Kontakt der Zähne mit den organischen Säuren während des Trinkvorganges ist nur ein vorübergehender und durch die Spül- und Pufferfunktion des Speichels dürfte eine rasche Neutralisierung erreicht werden. Um diesen Effekt auszuschalten wird in manchen Tierversuchen die Speichelproduktion durch
 45 "desalivation" unterbunden (Madison et al. (1991)), was zwar zu höheren Kariesinzidenzen, aber auch zu einem unphysiologischen Ausgangszustand führt und die Rückschlüsse auf die Verhältnisse beim Menschen eher erschwert als fördert.

Um eine positive Kontrolle im Rahmen der vorliegenden Erfindung zu haben und, da in den vorliegenden Untersuchungen ein flüssiges Nahrungsmittel getestet werden sollte, wurde das
 50 bekannt cariogene zucker- und säurehaltige Getränk Coca-Cola (Maiwald et al. (1979)) mitgeführt.

Auch im cariogenen Getränk Coca-Cola scheint nicht der niedrige pH-Wert (ca. 2,5), sondern der Zuckergehalt die ausschlaggebende Rolle zu spielen, da eine Senkung des Zuckergehaltes auch zu einer Verminderung der induzierten Karies führt (Maiwald et al. (1979)). In Kombucha ist ein Teil der ursprünglich vorhandenen Saccharide vergoren. Der Restgehalt an Kohlehydraten
 55 beträgt 8,5 g/100 ml verglichen mit 11,4 g/100 ml bei Coca-Cola. Daher wäre auch bei den mit

Kombucha getränkten Mäusen zumindest eine verstärkte Abnutzung zu erwarten gewesen. Dass die geringen Unterschiede in den Scores der mandibulären Molaren nach 6 Monaten zwischen Kombucha- und Kontrolltieren statistisch signifikant waren, liegt v.a. in der fehlenden Varianz der Scores der Kontrolltiere. Wie der weitere Verlauf zeigt, ist das nicht von praktischer Bedeutung, da die altersbedingten Erscheinungen einer gewissen (zeitlichen) Variabilität unterliegen und nach der mehr als doppelten Versuchsdauer von dann 15 Monaten Verabreichung keine Auswirkung des Kombucha-Konsums mehr feststellbar ist. Demgegenüber kommt es bei der Verabreichung von Cola zu einem progressiven Prozess, der mit starker Schädigung der Zähne einhergeht und bei weiterer Versuchsdauer zu einem weitgehenden Verlust der Zähne geführt hätte.

Es war daher umsomehr überraschend, dass Kombucha - bei vergleichbaren Kohlehydrat- bzw. pH-Wert (Säuregehalt) - im Gegensatz zu Coca-Cola keine cariogene Wirkung aufweist, sondern im Gegenteil sogar anticariogene oder cariostatische Wirkungen mit sich bringt.

Die Erfindung wird an Hand der nachfolgenden Beispiele, auf die sie selbstverständlich nicht beschränkt sein soll, näher erläutert.

Beispiele:

Material und Methode

Insgesamt je 175 Mäuse des Stammes Him:OF1(SPF) wurden für unterschiedliche Versuchsziele mit Kombucha (Hersteller: STOCK Vital Ges.m.b.H., Fuschl am See, AT) bzw. mit durch HCl-Zugabe auf pH 2,5 bis 3 angesäuertem Trinkwasser in Flaschen (Kontrollgruppe) versorgt. Als weitere Vergleichsgruppe dienten Tiere, denen ein stark zuckerhaltiger Softdrink (Coca-Cola) verabreicht wurde. Die Tiere waren zu Beginn der Studie 5 Wochen alt. Sie wurden in Gruppen zu 5 Tieren in Makrolon Typ 2-Käfigen auf Fichtenholz-Einstreu mit wöchentlichem Wechsel gehalten. Der Licht-Dunkel-Rhythmus war 10:14 h mit 200 lux in 2 m Höhe, der Luftwechsel war 15-fach je Stunde. Die Tiere hatten freien Zugang zu Futter (Alleinfutter Altromin 1324 ff autoklaviert). Mit Kombucha getränkte Tiere hatten einen ca. 10% geringeren Flüssigkeitsverbrauch und einen ca. 15% geringeren Futterverbrauch, der durch den Energiegehalt von Kombucha erklärbar ist. Die Gewichtsentwicklung war bis zur 30. Lebenswoche gleich. Danach nahmen die Kontrolltiere geringfügig mehr zu, was alleine auf einen stärkeren Depotfettansatz der Tiere zurückzuführen ist. Das Verhalten der Mäuse in Kombucha- und Kontrollgruppe unterschied sich am Ende der Studie nicht. Ebenso gab es keine Unterschiede in der Spontanmortalitätsrate. Aus diesem Versuchsansatz wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten Tiere zur Klärung verschiedener Fragestellungen entnommen.

Nach Alter von ca. 7 Monaten (nach ca. 6 Monaten Versuchsdauer) wurden von je 15 Kontroll- und Kombucha-Tieren sowie von 6 Cola-Tieren gleichen Alters, die aus anderen Gründen zur Sektion kamen, die Kiefer präpariert und die Zähne beurteilt. Im Alter von ca. 16 Monaten (nach ca. 15 Monaten Versuchsdauer) wurden die Zähne von je 10 weiteren Tieren aus diesen drei Gruppen beurteilt.

Die Tiere wurden durch cervikale Dislokation getötet. Die Schädel wurden vom Rumpf getrennt und das Gehirn zur histologischen Untersuchung entnommen. Anschließend wurde die Muskulatur durch Erhitzen in der Mikrowelle denaturiert. Nach Entfernen der Haut über den Kiefern und Teilen der Muskulatur wurden die Schädel über Nacht in 0,1 % Papainlösung (Merck 7144) bei 37°C inkubiert. Durch Entfernen der Muskeln, Sehnen und Mundschleimhaut wurden die Mandibel und Maxillen präpariert, anschließend mit 3 % H₂O₂ zur Lagerung desinfiziert. Die Beurteilung erfolgte unter einem Stereomikroskop (Leitz Elvar) bei 20facher Vergrößerung.

Während die Incisivi (Nage- oder Schneidezähne) bei Mäusen zeitlebens wachsen, nutzen sich die Backenzähne im Laufe des Lebens ab und die stark gefaltete Schmelzoberfläche wird schließlich zu einer ebenen Mahlfläche. Folgender Score wurde benutzt um einerseits die physiologische Abnutzung und andererseits pathologische Prozesse zu bewerten:

0	Schmelzfaltigkeit völlig erhalten
1	Schmelzfalten einseitig (lingual) mehr oder weniger horizontal angeschliffen

2	Schmelzfalten einseitig (lingual) mehr oder weniger horizontal flachgeschliffen, buccal erhalten oder angeschliffen
3	unphysiologischer (schräger bis vertikaler) Abschleiß der Mahlfächen
4	durch übermäßige Abnutzung und/oder kariöse Prozesse Defekte der Zahnstruktur, u. U. mit Eröffnung des Wurzelkanals von der Mahlfäche der
5	Defekte des Zahnes, die nicht von einer übermäßigen Abnutzung der Mahlfäche ausgehen, sondern durch kariöse Prozesse am Zahnhals entstehen

Nur die Molaren (Backenzähne) wurden in die Bewertung einbezogen und die Scores für die je 6 Molaren des Oberkiefers und des Unterkiefers getrennt summiert. Die Ergebnisse wurden mit einem nicht-parametrischen Test (Mann-Whitney U-Test für den paarweisen Vergleich von Gruppen) auf signifikante Unterschiede geprüft.

Ergebnisse

Die Ergebnisse sind Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1: Scores nach ca. 6 bzw. ca. 15 Monaten Versuchsdauer:

	OK nach 6 Mo	UK nach 6 Mo	OK nach 15 Mo	UK nach 15 Mo
Kontrolle	0	0	6,80 ± 1,75	6,30 ± 0,67
Kombucha	0	1,33 ± 0,90 ^a	5,80 ± 0,63	6,80 ± 1,03
Cola	0	5,33 ± 2,07 ^b	9,40 ± 1,78 ^{c,d}	17,10 ± 2,92 ^b

Die Zahlen geben die Mittelwerte der Summen der Scores der Molaren je Maus und die Standardabweichung an.

OK = Oberkiefer (Maxilla), UK = Unterkiefer (Mandibel)

^a signifikanter Unterschied zu Kontrolle $p < 0,001$

^b signifikanter Unterschied zu Kontrolle und Kombuchagruppe $p < 0,001$

^c signifikanter Unterschied zu Kontrolle $p < 0,01$

^d signifikanter Unterschied zu Kombuchagruppe $p < 0,001$

Im Bereich der Incisivi trat lediglich bei einem 16 Monate alten Tier der Cola-Gruppe eine verstärkte Abnutzung des rechten Incisivus im Unterkiefer mit Eröffnung des Wurzelkanals auf. Sonst war in keiner Gruppe zu keinem Zeitpunkt eine Abweichung von der physiologischen (altersentsprechenden) Abnutzung feststellbar. Die in den Mandibeln sitzenden Molaren zeigten deutlich stärkere (physiologische) Abnutzungserscheinungen verglichen mit den maxillären Molaren. Entsprechend schneller ging auch der pathologische Abbauprozess voran, womit sich generell höhere Scores im Unterkiefer ergaben. Während in der Kombuchagruppe nach sechs Monaten an den mandibulären Molaren kleine Schliffflächen zu sehen waren, traten diese in der Kontrollgruppe erst zu einem späteren Zeitpunkt auf. Nach 15 Monaten Versuchsdauer hatten sich diese Unterschiede jedoch praktisch gegeben, und die Scorewerte für die maxillären Molaren waren sogar geringfügig besser, allerdings statistisch auch ohne Bedeutung.

In der Cola-Gruppe trat an den Molaren bereits mit 7 Monaten bei 4 von 6 Tieren eine verstärkte Abnutzung, aber ohne Anzeichen von Karies auf. Mit 16 Monaten konnten in der Cola-Gruppe noch bei 2 von 10 Tieren die Zähne des Oberkiefers als im Normalbereich liegend beurteilt werden, während die des Unterkiefers generell einen übermäßigen Substanzverlust aufwiesen, der z. T. bis in den Zahnhalsbereich ging und in einem Fall zur Eröffnung des Wurzelkanals am ersten Molaren (M1) links führte. Bei einem Tier kam es ebenfalls am M1 rechts zu einem weitgehenden Freilegen

der Zahnwurzel als einem Zeichen von Parodontose.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung bestätigen frühere Studien, die in erster Linie Kohlehydrate als bakterielles Nährsubstrat und die daraus in der Plaque gebildeten Säuren für die Schädigung des Zahnschmelzes und Entstehung von Karies verantwortlich machen und extern zugeführte Säuren über einem pH-Wert von 2,5 bis 3 als unbedenklich einstufen. Durch die Dauer-
 verabreichung von Kombucha anstelle von Trinkwasser über einen Zeitraum von 15 Monaten kommt es trotz hoher Kohlehydratwerte im Getränk zu keiner signifikanten Erhöhung der Kariesin-
 zidenz bei Mäusen. Das könnte auf die immunstimulierende Wirkung von Kombucha und dadurch verursachte höhere IgA-Werte im Speichel zurückzuführen sein.

Literatur

Bowden G.H., Y.H. Li (1997), Nutritional influences on biofilm development. *Adv. Dent. Res.* **11**, 81-99.

Coogan M.M., H.B. Motlekar (1996), Salivary and plaque acids in caries active and caries free subjects. *J. Dent. Assoc. S. Afr.* **15**, 823-827.

Feagin FF and CN Graves (1988), Evaluation of the effects of F in acidified gelatin gel on root surface lesion development in vitro. *Caries Res.* **22**, 145-149.

Fontana M., A.J. Dunipace, G.K. Stookey, R.L Gregory (1999), Intranasal immunization against dental caries with a *Streptococcus mutans*-enriched fimbrial preparation. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **6**, 405-409.

Habermehl K.-H. (1980), Die Altersbestimmung bei Versuchstieren, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.

Hall J.H., W.J. White, C.M. Lang (1980), Acidification of drinking water: its effects on selected biologic phenomena in male mice. *Lab. Anim. Sc.* **30**, 643-651.

Hermann L.M., W.J. White, C.M. Lang (1982), Prolonged exposure to acid, chlorine, or tetracycline in the drinking water: Effects on delayed-type hypersensitivity, hemagglutination titers, and reticuloendothelial clearance rates in mice. *Lab. Anim. Sc.* **32**, 603-608.

Höger H. (1998), Gutachten über die immunstimulierende Wirkung von Kombucha.

Höger H. (1999a), Gutachten über die Wirkung von Kombucha auf die mucosale Immunität des Darmes von Mäusen.

Höger H. (1999b), Gutachten über die Wirkung von Kombucha auf die Zusammensetzung der Darmflora von Mäusen.

Karle E.J., F. Gehring, F. Deerberg (1980), Trinkwasseransäuerung und ihre schmelzschädigende Wirkung auf Rattenzähne. *Z. Versuchstierk.* **22**, 80-88.

Krasse B. (1985), The cariogenic Potential of foods - a critical review of current methods. *Int. Dent. J.* **35**, 36-42.

Madison K.M., Bowen W.H., Pearson S.K., Falany J.L. (1991), Enhancing the virulence of *Streptococcus sobrinus* in rats. *J. Dent. Res.* **70**, 38-43.

Maiwald H.J., L. Stosser, K. Hoppe, W. Tietze (1979), Auswirkungen der Zuckerreduzierung im Cola-Getränk auf die Karies im programmierten Rattenexperiment. (The effect on caries in animal experiments when reducing sugar in cola-drinks), *Zahn-Mund-Kieferheilkd-Zentralbl.* **67**, 572-578.

Marsh P.D. (1995), The role of microbiology in models of dental caries. *Adv. Dent. Res.* **9**, 244-254.

Miaki S., K. Nomoto, T. Yokokura, Y. Yoshikai, M. Mutai, K. Nomoto (1985), Protective effect of *Lactobacillus casei* on *Pseudomonas aeruginosa* infection in mice. *Infection and Immunity* **48**, 480-485.

Miettinen M., J. Vuopio-Varkila, K. Varkila (1996), Production of Human Tumor Necrosis Factor Alpha, Interleukin-6, and Interleukin-10 is induced by lactic acid bacteria. *Infection and Immunity* **64**, 5403-5405.

Nakano M. (1989), Changes of bacterial flora on inbred mouse strains using experimental caries model. *Tsurumi-Shigaku* **15**, 235-247.

Nomoto K, S. Miaki, S. Hashimoto, T. Yokokura, M. Mutai, Y. Yoshikai, K. Nomoto (1985), Augmentation of host resistance to *Listeria monocytogenes* infection by *Lactobacillus casei*. *J. Clin. Lab. Immunol.* **17**, 91-97.

Perdigon G., M.E. deMacias, S. Alvarez, G. Oliver, A.P. de Ruiz-Holgado (1986), Effect of perorally administered lactobacilli on macrophage activation in mice. *Infect. Immun.* **53**, 404-410.

Perdigon G., M.E. deMacias, S. Alvarez, G. Oliver, A.P. de Ruiz-Holgado (1988), Systemic augmentation of the immune response in mice by feeding fermented milks with *L.casei* and *L. acidophilus*. *Immunology* **63**, 17-23.

Saito H., H. Tomioka, K. Nagashima (1987), Protective and therapeutic efficacy of *Lactobacillus casei* against experimental murine infections due to *Mycobacterium fortuitum* complex. *Journal of General Microbiology* **133**, 2843-1851.

Salminen S., C. Bouley, M.-C. Boutron-Ruault, J. H. Cummings, A. Franck, G. R. Gibson, E. Isolauri, M.-C. Moreau, M. Roberfroid and I. Rowland. (1998), Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *British Journal of Nutrition*, **80**, Suppl. 1, S147-S171.

Sato K. (1984), Enhancement of host resistance against *Listeria* infection by *Lactobacillus casei*: role of macrophages. *Infect. Immun.* **44**, 45-451.

Sheiham A. (1987), Sucrose and dental caries. *Nutr. Health* **5**, 25-29.

Shellis R.P. (1984), Relationship between human enamel structure and the formation of caries-like lesions in vitro. *Arch. Oral Biol.* **29**, 975-981.

Tober-Meyer B.K., H.J. Bieniek (1981), Studies on the hygiene of drinking water for laboratory animals. 1. The effect of various treatments on bacterial contamination. *Lab. Anim.* **15**, 107-110.

Tober-Meyer B.K., H.J. Bieniek, I.R. Kupke (1981). Studies on the hygiene of drinking water for laboratory animals. 2. Clinical and biochemical studies in rats and rabbits during long-term Provision of acidified drinking water. *Lab. Anim.* **15**, 1111-117.

Thunert H., W. Heine (1975), zur Trinkwasserversorgung von SPF-Tieranlagen. III. Erhitzung und Ansäuerung von Trinkwasser. *Z. Versuchstierk.* **17**, 50-52.

Tolo K.J., S. Erichsen (1969), Acidified drinking water and dental enamel in rats. *Z. Versuchstierk.* **11**, 229-233.

Williams K.A., Schemehorn B.R., McDonald J.L. Jr., Stookey G.K., Katz S. (1982), Influence of selected fatty acids upon plaque formation and caries in the rat. *Arch Oral Biol* **27**, 1027-1031.

PATENTANSPRÜCHE:

1. Verwendung von Kombucha zur Herstellung eines Mittels zur Vorbeugung oder Behandlung von Zahnerkrankungen.
2. Verwendung nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Mittels zur Vorbeugung oder Behandlung von Zahnkaries.
3. Verwendung nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Mittels zur Vorbeugung oder Behandlung von Parodontopathien, insbesondere von marginalen Parodontopathien.
4. Verwendung nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Mittels mit anticariogener oder cariostatischer Wirkung.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass eine wässrige Kombucha-Lösung hergestellt wird.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass Kombucha in filtrierter oder zentrifugierter Form zur Verfügung gestellt wird.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass Kombucha eingesetzt wird, worin 0,5 bis 1,5 g/l Essigsäure, 0,5 bis 3 g/l Milchsäure und 0,2 bis 2 g/l Glukonsäure enthalten sind.
8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass Kombucha eingesetzt wird, worin 3 bis 15 g, insbesondere 5 bis 10 g, Kohlehydrate/100 ml enthalten sind.

KEINE ZEICHNUNG