

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Geschäftsführender Vorstand:

Univ.-Prof. Dr. H.-J. Gabius

Arbeit angefertigt unter der Leitung von

Prof. Dr. W.A. Rambeck

Der Einsatz von Lactoferrin und Epigallocatechingallat in der Prophylaxe parodontaler Erkrankungen der Katze

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Sonja Maria Elisabeth Gorissen
aus Stuttgart

München 2004

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
1. Referent:	Prof. Dr. W. Rambeck
2. Referent:	Univ.-Prof. Dr. R. Köstlin
1. Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. H.-J. Gabius
2. Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. R. T. Korbel
3. Korreferent:	Priv.-Doz. Dr. H. Kaltner

Tag der Promotion: 23. Juli 2004

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	17
2	LITERATURÜBERSICHT	19
2.1	MAULHÖLENERKRANKUNG BEI KATZEN	19
2.1.1	VORKOMMEN UND HÄUFIGKEIT	19
2.1.2	ERKRANKUNGEN UND IHRE WERTUNG	20
2.1.2.1	PARODONTOPATHIEN	20
2.1.2.1.1	PLAQUE	21
2.1.2.1.2	ZAHNSTEIN	21
2.1.2.1.3	GINGIVITIS	22
2.1.2.1.4	PERIODONTITIS	22
2.1.2.2	ANDERE HÄUFIGE ERKRANKUNGEN DER MAULHÖHLE BEI KATZEN	23
2.1.3	FOLGEN DER PARODONTOPATHIEN	23
2.1.3.1	FOLGEN DER PARODONTOPATHIEN FÜR DIE MAULHÖHLE	23
2.1.3.2	FOLGEN DER PARODONTOPATHIEN FÜR DEN GESAMTORGANISMUS	23
2.2	THERAPIE UND PROPHYLAXE DER PARODONTOPATHIEN	24
2.2.1	TIERÄRZTLICHE MAßNAHMEN	24
2.2.1.1	PLAQUE- UND ZAHNSTEINENTFERNUNG	24
2.2.1.1.1	MANUELLE ZAHNSTEINENTFERNUNG	24
2.2.1.1.2	MASCHINELLE ZAHNSTEINENTFERNUNG	25
2.2.1.2	POLITUR	25
2.2.1.3	SPÜLUNG DES GINGIVALEN SULCUS	26
2.2.1.4	FLUORIDIERUNG	26
2.2.1.5	ANTIBIOTISCHE THERAPIE	26
2.2.2	ZAHNPFLEGE DURCH DEN BESITZER	28
2.2.2.1	ALLGEMEINES	28
2.2.2.2	CHEMISCHE PLAQUEBEKÄMPFUNG	29
2.2.2.3	MECHANISCHE PLAQUEBEKÄMPFUNG	31
2.2.2.4	DIÄTETISCHE PLAQUEBEKÄMPFUNG	33
2.2.3	COMPLIANCE MIT DEN PROPHYLAXEMAßNAHMEN	35
2.3	LACTOFERRIN	36
2.3.1	URSPRUNG UND VORKOMMEN	36
2.3.2	CHEMIE UND BIOCHEMIE	37
2.3.3	WIRKUNGEN VON LACTOFERRIN	38
2.3.3.1	ALLGEMEIN	38
2.3.3.2	ANTIMIKROBIELLE WIRKUNG VON LACTOFERRIN	38
2.3.3.2.1	ANTIVIRALE WIRKUNG	38
2.3.3.2.2	ANTIFUNGALE WIRKUNG	38
2.3.3.2.3	ANTIBAKTERIELLE WIRKUNG	39
2.3.3.2.3.1	BAKTERIOSTATISCHE WIRKUNG	39
2.3.3.2.3.2	BAKTERIZIDE WIRKUNG	39
2.3.3.2.3.3	ADHÄSIONSINHIBITION	40
2.3.3.2.3.4	KATION-EFFEKT: LACTOFERRIZIN	41
2.3.3.2.3.5	SYNERGISTISCHE EFFEKTE DES LACTOFERRINS	42
2.3.3.2.3.6	OPSONISIERUNG UND COMPLEMENTAKTIVIERUNG DURCH LACTOFERRIN	43
2.3.4	EINSATZ VON LACTOFERRIN	43

2.4	(-)-EPIGALLOCATECHINGALLAT	45
2.4.1	PFLANZLICHER URSPRUNG GRÜNER TEE	45
2.4.2	CHEMIE UND BIOCHEMIE.....	46
2.4.3	PHARMAKOKINETIK UND TOXIKOLOGIE	47
2.4.3.1	ABSORPTION UND VERTEILUNG IM ORGANISMUS	47
2.4.3.2	METABOLISIERUNG UND ELIMINATION	48
2.4.3.3	TOXIZITÄT.....	49
2.4.4	WIRKUNGEN VON (-)-EPIGALLOCATECHINGALLAT	50
2.4.4.1	ALLGEMEIN.....	50
2.4.4.2	ANTIMIKROBIELLE WIRKUNG VON (-)-EPIGALLOCATECHINGALLAT	51
2.4.4.2.1	ANTIVIRALE WIRKUNG	51
2.4.4.2.2	ANTIFUNGALE WIRKUNG	51
2.4.4.2.3	ANTIBAKTERIELLE WIRKUNG	51
2.4.4.2.3.1	MEMBRANVERÄNDERUNG.....	52
2.4.4.2.3.2	ANTIHÄMOLYSINEFFEKT	53
2.4.4.2.3.3	SYNERGIEEFFEKT	53
2.4.4.2.3.4	ADHÄSIONSINHIBITION.....	53
2.4.4.2.3.5	HEMMUNG BAKTERIELLER ENZYME.....	54
2.4.4.2.3.6	RESISTENZENTWICKLUNG	56
2.4.5	EINSATZ VON (-)-EPIGALLOCATECHINGALLAT UND ANDEREN TEEPOLYPHENOLEN IN DER MUNDHYGIENE	56
3	MATERIAL UND METHODEN	58
3.1	VERSUCHSAUFBAU	58
3.2	VERSUCHSTIERE	59
3.3	VERSUCHSFUTTER	61
3.4	ERHEBUNG DER PARAMETER UND PROBENENTNAHME	66
3.4.1	ALLGEMEINUNTERSUCHUNG	66
3.4.2	ANÄSTHESIE	66
3.4.3	BLUTENTNAHME	67
3.4.4	UNTERSUCHUNG DER MAULHÖHLE.....	69
3.4.4.1	ENTNAHME DER PROBEN FÜR DIE BAKTERIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG	71
3.4.4.2	HALITOSEMESSUNG.....	72
3.4.4.3	GINGIVITISINDEX	74
3.4.4.4	SONDIERUNGSTIEFE	76
3.4.4.5	MOBILITÄTSINDEX	77
3.4.4.6	FURKATIONSINDEX	78
3.4.4.7	PLAQUEINDEX	79
3.4.4.8	ZAHNSTEININDEX.....	81
3.4.4.9	ZAHNSTEINENTFERNUNG	82
3.4.4.10	POLITUR	83
3.5	LABORUNTERSUCHUNGEN	83
3.5.1	BAKTERIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG	83
3.5.1.1	VERARBEITUNG UND ANZUCHT DER ENTNOMMENEN PROBEN	83
3.5.1.2	DIFFERENZIERUNG DER EINZELSTÄMME	85
3.5.1.2.1	IN-VITRO-UNTERSUCHUNG DER ANTIBAKTERIELLEN AKTIVITÄT VON LACTOFERRIN UND (-)-EPIGALLOCATECHINGALLAT	86
3.5.1.2.1.1	IN-VITRO-UNTERSUCHUNG DER ANTIBAKTERIELLEN AKTIVITÄT VON LACTOFERRIN	86

3.5.1.2.1.2	IN-VITRO-UNTERSUCHUNG DER ANTIBAKTERIELLEN AKTIVITÄT VON (-)-EPIGALLOCATECHINGALLAT	88
3.5.2	BESTIMMUNG DES ANTIOXIDATIVEN STATUS	90
3.5.2.1	BESTIMMUNG DER VITAMIN C-KONZENTRATION IM SERUM.....	90
3.5.2.2	BESTIMMUNG DER VITAMIN E-KONZENTRATION IM SERUM.....	91
3.5.2.3	BESTIMMUNG DER TROLOX EQUIVALENT ANTIOXIDANT CAPACITY IM SERUM	93
3.5.2.4	BESTIMMUNG DER ENZYME CREATIN-KINASE UND ASPARTAT- AMINOTRANSFERASE IM SERUM.....	95
3.5.3	BESTIMMUNG DES (-)-EPIGALLOCATECHINGALLAT-PLASMASPIEGELS	96
3.6	STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	97
4	ERGEBNISSE	98
4.1	VERSUCH I (WIRKSTOFF LACTOFERRIN).....	98
4.1.1	ALLGEMEINZUSTAND UND GEWICHTSENTWICKLUNG	98
4.1.2	BLUTBILDER.....	99
4.1.2.1	ROTES BLUTBILD	99
4.1.2.2	WEIBES BLUTBILD	99
4.1.3	MAULHÖHLENPARAMETER.....	103
4.1.3.1	HALITOSE.....	103
4.1.3.2	GINGIVITISINDEX	103
4.1.3.3	SONDIERUNGSTIEFE	105
4.1.3.4	MOBILITÄTSINDEX	106
4.1.3.5	FURKATIONSINDEX	107
4.1.3.6	PLAQUEINDEX	107
4.1.3.7	ZAHNSTEININDEX.....	108
4.1.4	BAKTERIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG	109
4.1.4.1	GRUNDSTATUS	109
4.1.4.2	VERGLEICH DER MAULHÖHLENFLORA AN TAG 0 MIT TAG 28.....	112
4.1.4.2.1	KATZEN DER KONTROLLGRUPPE	113
4.1.4.2.2	KATZEN DER LACTOFERRINGRUPPE	118
4.1.4.3	IN-VITRO-UNTERSUCHUNG DER ANTIBAKTERIELLEN AKTIVITÄT VON LACTOFERRIN.....	124
4.1.5	ANTIOXIDATIVER STATUS	126
4.1.5.1	VITAMIN E-KONZENTRATION IM SERUM.....	126
4.1.5.2	VITAMIN C-KONZENTRATION IM SERUM	127
4.1.5.3	TROLOX EQUIVALENT ANTIOXIDANT CAPACITY IM SERUM.....	127
4.1.5.4	CREATIN-KINASE IM SERUM	128
4.1.5.5	ASPARTAT-AMINOTRANSFERASE IM SERUM	129
4.2	VERSUCH II (WIRKSTOFF (-)-EPIGALLOCATECHINGALLAT)	129
4.2.1	ALLGEMEINZUSTAND UND GEWICHTSENTWICKLUNG	129
4.2.2	BLUTBILDER.....	130
4.2.2.1	ROTES BLUTBILD	130
4.2.2.2	WEIBES BLUTBILD	131
4.2.3	MAULHÖHLENPARAMETER.....	135
4.2.3.1	HALITOSE.....	135
4.2.3.2	GINGIVITISINDEX	136
4.2.3.3	SONDIERUNGSTIEFE	137
4.2.3.4	MOBILITÄTSINDEX	138
4.2.3.5	FURKATIONSINDEX	138

4.2.3.6	PLAQUEINDEX	139
4.2.3.7	ZAHNSTEININDEX.....	140
4.2.4	BAKTERIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG	141
4.2.4.1	VERGLEICH DER MAULHÖHLENFLORA AN TAG 0 MIT TAG 28.....	141
4.2.4.1.1	KATZEN DER KONTROLLGRUPPE	142
4.2.4.1.2	KATZEN DER (-)-EPIGALLOCATECHINGALLAT-GRUPPE.....	146
4.2.4.2	IN-VITRO-UNTERSUCHUNG DER ANTIBAKTERIELLEN AKTIVITÄT VON (-)- EPIGALLOCATECHINGALLAT	150
4.2.5	ANTIOXIDATIVER STATUS	153
4.2.5.1	VITAMIN E-KONZENTRATION IM SERUM.....	153
4.2.5.2	VITAMIN C-KONZENTRATION IM SERUM	154
4.2.5.3	TROLOX EQUIVALENT ANTIOXIDANT CAPACITY IM SERUM.....	154
4.2.5.4	CREATIN-KINASE IM SERUM	155
4.2.5.5	ASPARTAT-AMINOTRANSFERASE IM SERUM	156
4.2.6	(-)-EPIGALLOCATECHINGALLAT-PLASMASPIEGEL	156
5	DISKUSSION	157
5.1	ZUM VERSUCHSAUFBAU UND DER VERSUCHDURCHFÜHRUNG	157
5.2	ZU DEN BLUTBILDERN	161
5.2.1	ROTES BLUTBILD	161
5.2.2	WEIßES BLUTBILD	161
5.3	ZU DEN MAULHÖHLENPARAMETERN.....	162
5.3.1	ZUR HALITOSEMESSUNG	162
5.3.1.1	METHODE.....	162
5.3.1.2	ERGEBNISSE	164
5.3.2	ZU DEN INDICES	165
5.3.2.1	METHODEN	165
5.3.2.2	ERGEBNISSE	166
5.3.2.2.1.1	GINGIVITISINDEX	166
5.3.2.2.1.2	SONDIERUNGSTIEFE	168
5.3.2.2.1.3	MOBILITÄTS-UND FURKATIONSINDEX.....	169
5.3.2.2.1.4	PLAQUEINDEX	170
5.3.2.2.1.5	ZAHNSTEININDEX.....	172
5.3.2.2.1.6	ERGEBNISSE DER INDICES ALLGEMEIN	173
5.4	DISKUSSION DER BAKTERIOLOGISCHEN UNTERSUCHUNGEN	174
5.4.1	DISKUSSION DER METHODEN	174
5.4.1.1	ANZUCHT UND DIFFERENZIERUNG DER ENTNOMMENEN PROBEN.....	174
5.4.1.2	METHODIK DER IN-VITRO-UNTERSUCHUNGEN.....	175
5.4.2	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	176
5.4.2.1	ERFASSUNG DES GRUNDSTATUS	176
5.4.2.2	VERGLEICH DER MAULHÖHLENFLORA AN TAG 0 MIT TAG 28.....	179
5.4.2.2.1	ALLGEMEINES	179
5.4.2.2.2	VERÄNDERUNG DER KEIMFLORA WÄHREND DES LACTOFERRIN- VERSUCHES (VERSUCH I).....	179
5.4.2.2.3	VERÄNDERUNG DER KEIMFLORA WÄHREND DES (-)- EPIGALLOCATECHINGALLAT-VERSUCHES (VERSUCH II).....	180
5.4.2.2.4	ZUSAMMENFASSUNG.....	180
5.4.2.3	IN-VITRO-UNTERSUCHUNG DER ANTIBAKTERIELLEN AKTIVITÄT VON LACTOFERRIN UND (-)-EPIGALLOCATECHINGALLAT	180

5.4.2.3.1	IN-VITRO-UNTERSUCHUNG DER ANTIBAKTERIELLEN AKTIVITÄT VON LACTOFERRIN.....	180
5.4.2.3.2	IN-VITRO-UNTERSUCHUNG DER ANTIBAKTERIELLEN AKTIVITÄT VON (-)-EPIGALLOCATECHINGALLAT	181
5.4.2.3.3	ZUSAMMENFASSUNG.....	181
5.5	ZUM ANTIOXIDATIVEN STATUS	181
5.5.1	VITAMINE C UND E	182
5.5.2	TROLOX EQUIVALENT ANTIOXIDANT CAPACITY	182
5.5.3	ENZYME CREATIN-KINASE UND ASPARTAT-AMINOTRANSFERASE	183
5.5.4	ZUSAMMENFASSUNG.....	184
5.6	SCHLUSSFOLGERUNGEN AUS DER DISKUSSION.....	185
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	187
7	SUMMARY.....	189
8	LITERATURANGABEN.....	191
9	ANHANG	211
9.1	BLUTBILDER DER KATZEN VOR VERSUCHSBEGINN	211
9.2	SERUMWERTE DER KATZEN VOR VERSUCHSBEGINN	212
9.3	MAULHÖHLENFLORA VON 10 KATZEN ZUM ZEITPUNKT TAG 0 DES VERSUCHES 1 (GRUNDSTATERHEBUNG).....	213
10	DANKSAGUNG.....	218
11	LEBENS LAUF	220

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:	Kommerzieller Einsatz von LF nach STEIJNS UND VAN HOOIJDONK (2000)	43
Tabelle 2:	Überblick über die Wirkungen von (-)-Epigallocatechingallat.....	50
Tabelle 3:	Darstellung des Versuchsablaufes zur Untersuchung der Auswirkungen von LF (Versuch I) bzw. EGCG (Versuch II) auf die Maulhöhlengesundheit bei Katzen anhand des „clean-tooth“ Modells	59
Tabelle 4:	Übersicht über die für den Versuch verwendeten Katzen, deren Gruppenzugehörigkeit (A/B), Geschlecht (m=männlich, w=weiblich, mk=männlich kastriert, wk=weiblich kastriert), Alter (in Jahren) und mittleres Körpergewicht während der Versuche (in kg)	60
Tabelle 5:	Einteilung der Katzen in die Kontroll- und Wirkstoffgruppe im Versuch I (Wirkstoff: Lactoferrin) und Versuch II (Wirkstoff: EGCG)	61
Tabelle 6:	Nährstoffgehalte des Versuchsfutters laut Deklaration des Herstellers in % der ursprünglichen Substanz (uS)	61
Tabelle 7:	Zusatzstoffgehalte des Versuchsfutters laut Deklaration des Herstellers	62
Tabelle 8:	Wirkstoffgehalt im Futter.....	63
Tabelle 9:	Nährstoffgehalte des Versuchsfutters nach institutseigener Weender Analyse.....	65
Tabelle 10:	Energiegehalt der in den Versuchen verwendeten Futtermittel, berechnet nach Kienzle et al. (1998)	66
Tabelle 11:	Einteilung der organoleptisch erfassten Halitose in vier verschiedene Intensitätsgrade.....	72
Tabelle 12:	Einteilung der Gingivitis in fünf verschiedene Gingivitisgrade.....	75
Tabelle 13:	Berechnung des Ginigvitisindex (GI) pro Zahn, pro Katze und pro Gruppe.....	75
Tabelle 14:	Berechnung der Sondierungstiefe (PD) pro Zahn, pro Katze und pro Gruppe.....	77
Tabelle 15:	Einteilung des Mobilitätsindex (MI) in vier verschiedene Grade	77
Tabelle 16:	Berechnung des Mobilitätsindex (MI) pro Katze und pro Gruppe	78
Tabelle 17:	Einteilung des Furkationsindex (FI) in vier verschiedene Grade.....	78
Tabelle 18:	Berechnung des Furkationsindex pro Katze und pro Gruppe	78
Tabelle 19:	Beurteilung des Grades der Plaquebedeckung für den Plaqueindex (PI).....	79
Tabelle 20:	Beurteilung der Intensität der Anfärbung (Dicke) für den Plaqueindex (PI).....	80
Tabelle 21:	Berechnung des Plaqueindex (PI) pro Zahn, pro Katze und pro Gruppe.....	80
Tabelle 22:	Einteilung der Zahnsteinindex in fünf verschiedene Grade	81
Tabelle 23:	Berechnung des Zahnsteinindex (CI) pro Zahn, pro Katze und pro Gruppe.....	82
Tabelle 24:	Verwendete api®-Systeme.....	86

Tabelle 25:	Hemmstofftest Lactoferrin (LF) auf Müller-Hinton-Agar.....	88
Tabelle 26:	Hemmstofftest (-)-Epigallocatechingallat (EGCG) auf Blutagar.....	89
Tabelle 27:	Mittleres Körpergewicht in kg (MW±Stabw.) der Katzen der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I).....	98
Tabelle 28:	Mittlere Erythrozytenanzahl ($\times 10^{12}/l$), mittlerer Hämatokrit (%), mittlerer Hämoglobingehalt (mmol/l) und mittlere Erythrozytenindices (MCV in fL, MCH in fmol, MCHC in mmol/l) ± Stabw. der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I).....	99
Tabelle 29:	Leukozytenanzahl und Differentialblutbild der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I).....	102
Tabelle 30:	Mittlere Halitose-Werte der organoleptischen Messung (Grad 0-3) und der Messung mit dem Halimeter® (in ppm) von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I).....	103
Tabelle 31:	Mittlerer Gingivitisindex GI ($x\pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I).....	104
Tabelle 32:	Mittlere Sondierungstiefe PD ($x\pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle in mm von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I).....	105
Tabelle 33:	Mittlerer Mobilitätsindex MI ($x\pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I).....	106
Tabelle 34:	Mittlerer Plaqueindex PI ($x\pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I).....	108
Tabelle 35:	Mittlerer Zahnsteinindex CI ($x\pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I).....	109
Tabelle 36:	Aerobe Bakterienflora der Versuchskatzen. Auflistung aller aeroben Bakterien, die isoliert werden konnten und Anzahl der Katzen (n=10) von denen der jeweilige Keim isoliert wurde.....	110
Tabelle 37:	Anaerobe Bakterienflora der Versuchskatzen. Auflistung aller anaeroben Bakterien die isoliert werden konnten und Anzahl der Katzen (n=10), bei denen der jeweilige Keim isoliert wurde.....	111
Tabelle 38:	Katze 11 (Kontrollgruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend (Versuch I).....	115
Tabelle 39:	Katze 12 (Kontrollgruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend (Versuch I).....	118
Tabelle 40:	Katze 1 (Lactoferringruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend.....	120

Tabelle 41:	Katze 4 (Lactoferringruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend	123
Tabelle 42:	Untersuchung der Wachstumshemmung von Mischkulturen aus der Tupfer-Suspension durch Lactoferrin auf Müller-Hinton-Agar bei aerober und anaerober Bebrütung	125
Tabelle 43:	Mittlere Vitamin E-Gehalte (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in µg/ml von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)	126
Tabelle 44:	Mittlere Vitamin C-Gehalte (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in µg/ml von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)	127
Tabelle 45:	Mittlere TEAC (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in mmol/l, von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)	128
Tabelle 46:	Mittlere Konzentrationen der Creatin-Kinase (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in U/l, von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)	128
Tabelle 47:	Mittlere Konzentration der Aspartat-Aminotransferase (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in U/l, von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)	129
Tabelle 48:	Mittleres Gewicht in kg (MW±Stabw.) der Katzen der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)	130
Tabelle 49:	Mittlere Erythrozytenanzahl ($\times 10^{12}/l$), mittlerer Hämatokrit (%), mittlerer Hämoglobingehalt (mmol/l) und mittlere Erythrozytenindices (MCV in fl, MCH in fmol, MCHC in mmol/l) ±Stabw. der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)	131
Tabelle 50:	Leukozytenanzahl und Differentialblutbild der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II).	134
Tabelle 51:	Mittlere Halitose-Werte der organoleptischen Messung (Grad 0-3) und der Messung mit dem Halimeter® (in ppm) der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)	135
Tabelle 52:	Mittlerer Gingivitisindex GI ($\bar{x}\pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)	136
Tabelle 53:	Mittlere Sondierungstiefe PD ($\bar{x}\pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle in mm von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)	137
Tabelle 54:	Mittlerer Mobilitätsindex MI ($\bar{x}\pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)	138

Tabelle 55:	Mittlerer Plaqueindex PI ($x \pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II).....	140
Tabelle 56:	Mittlerer Zahnsteinindex CI ($x \pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)	141
Tabelle 57:	Katze 1 (Kontrollgruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend	144
Tabelle 58:	Katze 4 (Kontrollgruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend	146
Tabelle 59:	Katze 11 (EGCG-Gruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend	148
Tabelle 60:	Katze 12 (EGCG-Gruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend	150
Tabelle 61:	Untersuchung der Wachstumshemmung von Mischkulturen aus der Tupfer-Suspension und der Rosenow-Bouillon auf Blutagar durch EGCG bei aerober und anaerober Bebrütung	151
Tabelle 62:	Mittlere Vitamin E-Gehalte (MW \pm Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in $\mu\text{g/ml}$, von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch II).....	153
Tabelle 63:	Mittlere Vitamin C-Gehalte (MW \pm Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in $\mu\text{g/ml}$ von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch II).....	154
Tabelle 64:	Mittlere TEAC (MW \pm Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in mmol/l von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)	155
Tabelle 65:	Mittlere Konzentrationen der Creatin-Kinase (MW \pm Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in U/l von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch II).....	155
Tabelle 66:	Mittlere Konzentration der Aspartat-Aminotransferase (MW \pm Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in U/l von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch II).....	156
Tabelle 67:	Aerobe Bakterienflora der Katzenmaulhöhle laut Literatur.....	177
Tabelle 68:	Anaerobe Bakterienflora der Katzenmaulhöhle laut Literatur.....	177
Tabelle 69:	In der Untersuchung des Grundstatus isolierte Bakterien, die bisher nicht in der Literatur erwähnt wurden.....	178
Tabelle 70:	Rotes Blutbild und Thrombozytenzahlen der Katzen vor Versuchsbeginn ..	211
Tabelle 71:	Weißes Blutbild der Katzen vor Versuchsbeginn	211
Tabelle 72:	Harnstoff, Kreatinin und Leberenzyme (AST, ALT, GLDH) der Katzen vor Versuchsbeginn.....	212
Tabelle 73:	Zusammensetzung der Maulhöhlenflora an Tag 0 des Versuches I (Grundstatus) von den Katzen Nr. 1 und 2.....	213

Tabelle 74:	Zusammensetzung der Maulhöhlenflora an Tag 0 des Versuches I (Grundstatus) von den Katzen Nr. 3 und 4.....	214
Tabelle 75:	Zusammensetzung der Maulhöhlenflora an Tag 0 des Versuches I (Grundstatus) von den Katzen Nr. 5 und 6.....	215
Tabelle 76:	Zusammensetzung der Maulhöhlenflora an Tag 0 des Versuches I (Grundstatus) von den Katzen Nr. 7 und 8.....	216
Tabelle 77:	Zusammensetzung der Maulhöhlenflora an Tag 0 des Versuches I (Grundstatus) von den Katzen Nr. 11 und 12.....	217

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Anatomie des Parodontiums..... 20

Abbildung 2: Grundstruktur der Flavonoide 46

Abbildung 3: Strukturformel von (-)-Epigallocatechingallat 47

Abbildung 4: Nomenklatur der Zähne der Katze nach dem modifizierten Triadan-System 70

Abbildung 5: Darstellung der Richtungsbezeichnungen in der Maulhöhle und am Zahn 70

Abbildung 6: Halimeter®-Front..... 73

Abbildung 7: Halimeter®-Protokoll..... 74

Abbildung 8: Parodontometer mit definiertem Anschlag bei 0,2 Newton (Fa. AESCULAP®, Tuttlingen) zur Bestimmung des Gingivitisindex und der Sondierungstiefe..... 76

Abbildung 9: Plaqueanfärbung mit Mira-2-Ton..... 81

Abbildung 10: Katze 1, Versuch 1, Ausstrich der Tupfer-Suspension auf Blutagar nach 48 Stunden aerober Bebrütung bei 37°C; Entnahmezeitpunkt Tag 0 84

Abbildung 11: Katze 1, Versuch I, Ausstrich der Tupfer-Suspension auf Blutagar nach 48 Stunden aerober Bebrütung bei 37°C; Entnahmezeitpunkt Tag 28 84

Abbildung 12: Kalibrierkurve für die TEAC-Berechnung..... 94

Abbildung 13: Darstellung der Verteilung der 71 isolierten Bakterienspezies auf die acht Kategorien (aerob/anaerob, Stäbchen/Kokke, grampositiv/gramnegativ). 112

Abbildung 14: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 11 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I) 114

Abbildung 15: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 11 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I) 114

Abbildung 16: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 12 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I) 117

Abbildung 17: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 12 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I) 117

Abbildung 18: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 1 (Lactoferringruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I)..... 119

Abbildung 19: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 1 (Lactoferringruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I)..... 119

Abbildung 20: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 4 (Lactoferringruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I)..... 122

Abbildung 21: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 4 (Lactoferringruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I).....	122
Abbildung 22: Kontrolle ohne Lactoferrin auf aerob bebrütetem Müller-Hinton-Agar	126
Abbildung 23: Hemmhofbildung durch Lactoferrin (10mg/100µl) auf aerob bebrütetem Müller-Hinton-Agar	126
Abbildung 24: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 1 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch II).....	143
Abbildung 25: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 1 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch II).....	143
Abbildung 26: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 4 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch II).....	145
Abbildung 27: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 4 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch II).....	145
Abbildung 28: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 11 (EGCG-Gruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch II).....	147
Abbildung 29: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 11 (EGCG-Gruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch II).....	147
Abbildung 30: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 12 (EGCG-Gruppe) auf die 8 verschiedenen Kategorien in % (Versuch II)	149
Abbildung 31: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 12 (EGCG-Gruppe) auf die 8 verschiedenen Kategorien in % (Versuch II)	149
Abbildung 32: Kontrolle ohne EGCG auf aerob bebrütetem Blutagar	153
Abbildung 33: Hemmhofbildung durch EGCG (13 mg/100 µl) auf aerob bebrütetem Blutagar	153

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
ABTS	2,2`-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
ADP	Adenosindiphosphat
ALT	Alanin-Amino-Transferase
Aqua dest.	Aqua destillata (destilliertes Wasser)
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
AVDS	American Veterinary Dental Society
BGBI I	Bundesgesetzblatt I
C.	Camellia
CI	Calculus-Index (Zahnsteinindex)
CK	Creatin-Kinase
DE	Digestible energy (verdauliche Energie)
E	Extinktion
E. coli	Escherichia coli
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGCG	(-)-Epigallocatechin-3-gallat
et al.	Et alii (und andere)
etc.	Et cetera (und so weiter)
FeLV	Felines Leukämievirus
FI	Furkationsindex
FIV	Felines Immunschwächevirus
fl	Femtoliter
fmol	Femtomol
FORL	Feline Odontoklastische Resorptive Läsionen
G	Gauge
g	Gramm
GE	Gross energy (Bruttoenergie)
GI	Gingivitis-Index
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
GTF	Glucosyltransferase
h	Stunde

HCMV	Humanes Cytomegalovirus
HIV	Humane Immunodeficiency Virus (Humanes Immunschwäche Virus)
HPC	Hydroxypropylcellulose
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
HSV-1	Herpes-Simplex-Virus 1
I.E.	Internationale Einheiten
i.m.	Intramuskulär
IU	International Unit (Internationale Einheit)
i.v.	Intravenös
Ig G	Immunglobulin G
kcal	Kilokalorien
kg	Kilogramm
KM	Körpermasse
l	Liter
LC/MS	Liquid Chromatographie/Massspektrometrie
LF	Lactoferrin
LGL-OS	Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Oberschleissheim
LLQ	lower limit of quantification (Quantifikationslimit)
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität
Lnn.	Lymphonodi
LPS	Lipopolysaccharide
MCC	Micro Cleaning Crystals
MCH	Mean corpuscular hemoglobin (Mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten)
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration (Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten)
MCV	Mean corpuscular volume (Mittleres Erythrozytenvolumen)
ME	Metabolizable energy (umsetzbare Energie)
mg	Milligramm
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter

MI	Mobilitätsindex
MIC	Minimum inhibitory concentration (minimale Hemmkonzentration)
Min.	Minute
MJ	Megajoule
ml	Milliliter
mmol	Millimol
MRSA	Methicillin-resistente Staphylococcus aureus
MW	Mittelwert
n	Anzahl
NAD+	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid
NADP+	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-phosphat
NADPH +H+	reduzierte Form des NADP+
nmol	Nanomol
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
p.a.	Pro analysi
PBS	Phosphate buffered saline
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)
PD	Probing depth, Sondierungstiefe
PI	Plaque-Index
PMN	Polymorphkernige neutrophile Leukozyten
PTPase	Phosphotyrosyl Phosphatase
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acids
Ra	Rohasche
Rfa	Rohfaser
Rfe	Rohfett
RNA	Ribonucleinsäure
Rp	Rohprotein
s.c.	Subcutan
sp.	Species
Stabw.	Standardabweichung
sV	Scheinbare Verdaulichkeit
t 1/2	Eliminationshalbwertszeit
TAA	Total Antioxidant Activity

Tab.	Tabelle
TDH	Thermostabiles direktes Hämolysin
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
TNF- α	Tumor-Nekrosefaktor α
TM	Trademark
tRNA	Transfer-Ribonucleinsäure
TS	Trockensubstanz
U	Units, Einheiten
u.a.	unter anderem
U/min	Umdrehungen pro Minute
uS	Ursprüngliche Substanz
v. Chr.	Vor Christus
V.	Vena
v.a.	Vor allem
V/V	Volumen/Volumen
VOHC	Veterinary Oral Health
VSC	Volatile Sulphur Compounds
z.B.	Zum Beispiel
ZEG	Zahnsteinentfernungsgerät

1 Einleitung und Problemstellung

Etwa 70% aller Katzen über zwei Jahre sind von Maulhöhlenerkrankungen betroffen (JOHNSTON, 1998). Der überwiegende Teil dieser Erkrankungen zählt zum Formenkreis der Parodontopathien. Zu Beginn steht dabei immer die Ansammlung bakterieller Beläge, der Plaque. Die weitere Entwicklung führt über die Entstehung von Gingivitis und Zahnstein zur Parodontitis mit irreversibler Zerstörung des Zahnhalteapparates und zuletzt Zahnverlust.

Diese Erkrankungen bereiten der Katze häufig Schmerzen und können durch die systemische Abschwemmung von Bakterien aus dem Entzündungsherd Schäden an verschiedenen Organen verursachen. Für den Besitzer ist meist der unangenehme Maulgeruch das deutlichste Symptom einer Maulhöhlenerkrankung seiner Katze.

Wie beim Menschen lassen sich auch bei der Katze Parodontopathien durch regelmäßiges Zähneputzen, durch die lokale Applikation antibakterieller Substanzen und durch regelmäßige professionelle Zahnreinigungen verhindern oder zumindest in ihrer Entwicklung verzögern. Da diese Maßnahmen von Katzen häufig schlecht toleriert werden und mit einigem Aufwand für den Besitzer verbunden sind bzw. eine Narkose benötigen, werden sie in der Praxis häufig nicht oder in nicht ausreichendem Maße durchgeführt.

Aus diesem Grund wird nach Prophylaxemöglichkeiten gesucht, die von den Katzen gut akzeptiert werden, unproblematisch sowie Zeit und Kosten sparend in der Anwendung sind und darüber hinaus eine gute Wirksamkeit zeigen.

Am praktikabelsten scheint die Verabreichung prophylaktisch wirkender Alleinfuttermittel, die sich bereits in verschiedenen Variationen auf dem Markt befinden. Die meisten Produkte bekämpfen die Plaque- und Zahnsteinbildung mechanisch durch vermehrten Abrieb der entstandenen Beläge, z.B. mit Hilfe einer speziellen Futterstruktur.

Ein anderer Ansatz ist die Verabreichung antibakterieller Substanzen über das Futter, die in der Maulhöhle desinfizierend wirken und die Plaqueentstehung verhindern oder zumindest reduzieren. Dieser Ansatz wird in der vorliegenden Arbeit verfolgt. Zwei natürliche antibakterielle Substanzen werden auf Trockenfutter für Katzen aufgebracht und ihre Wirksamkeit gegen Plaque- und Zahnsteinakkumulation sowie ihr Einfluss auf verschiedene weitere Parameter der Maulgesundheit bei Katzen untersucht.

Bei den verwendeten Substanzen handelte es sich um Lactoferrin und (-)-Epigallocatechingallat. Beide Substanzen wirken antibakteriell, und ihre Wirksamkeit gegen Bakterien der menschlichen Mundflora ist bereits nachgewiesen worden (SAKANAKA et al., 1989; ALUGUPALLI et al., 1994).

Um die Wirksamkeit dieser Substanzen in der Prophylaxe von Parodontopathien bei Katzen erstmals zu untersuchen, werden zwei Fütterungsversuche durchgeführt. In Versuch I wird das lactoferrinhaltige Futter im Vergleich zu wirkstofffreiem Kontrollfutter getestet, in Versuch II das (-)-epigallocatechingallathaltige Futter im Vergleich zu wirkstofffreiem Kontrollfutter.

Jeweils zu Beginn der Versuche (Tag 0) wird bei allen Katzen der Versuchs- und der Kontrollgruppe eine gründliche Entfernung von Zahnstein- und Plaquebelägen vorgenommen, um eine Ausgangssituation mit sauberen Zähnen („clean tooth“-Modell) zu schaffen. Der Gesundheitszustand der Maulhöhle wird zu diesem Zeitpunkt und am Ende der jeweils 28 tägigen Versuchsperiode anhand verschiedener Indices (Gingivitisindex und Sondierungstiefe, Plaqueindex, Zahnsteinindex, Mobilitäts- und Furkationsindex), einer Halitosemessung und einer bakteriologischen Untersuchung beurteilt. Die ermittelten Werte werden innerhalb der Wirkstoff- bzw. Kontrollgruppe sowie zwischen der Wirkstoff und Kontrollgruppe verglichen, um die Auswirkungen der eingesetzten Substanzen überprüfen zu können. Zusätzlich ist geplant, In-vitro-Untersuchungen zum Nachweis der antibakteriellen Aktivität der Substanzen gegen die Maulhöhlenflora der Katzen durchzuführen.

Aufgrund der antioxidativen Eigenschaften der eingesetzten Substanzen (WISEMAN et al., 1997; NIMMAGUDDA et al., 1999) soll als Nebenzielgröße die Auswirkung der wirkstoffhaltigen Futter auf den Antioxidativen Status der Katzen untersucht werden.

Ziel der Arbeit ist es, zu untersuchen, ob durch Verabreichung eines lactoferrin- bzw. (-)-epigallocatechingallathaltigen Trockenfutters eine signifikante Verbesserung der Maulhöhlengesundheit in Form einer verringerten Plaque- und Zahnsteinakkumulation sowie durch Verbesserung verschiedener anderer Parameter der Maulgesundheit bei Katzen erreicht werden kann.

2 Literaturübersicht

2.1 Maulhöhlenerkrankung bei Katzen

In der Geschichte der Veterinärmedizin findet man schon v. Chr. Berichte über Zahnbehandlungen bei Pferden. Die Zahnerkrankungen der Hunde und Katzen dagegen werden erstmals Mitte des neunzehnten Jahrhunderts erwähnt und erst rund 200 Jahre nach der Gründung der ersten Veterinärmedizinischen Fakultät im Jahr 1762 gewann die Zahnbehandlung bei Kleintieren an den Hochschulen an Bedeutung (HARVEY, 1994).

Viele Katzenbesitzer wissen nur wenig über den Zustand der Zähne ihres Tieres. Im Gegensatz zur Humanmedizin ist es in der Tiermedizin noch wenig verbreitet, eine regelmäßige Kontrolluntersuchung der Zähne vornehmen zu lassen. Ebenso selten wird eine regelmäßige Pflege und Kontrolle der Zähne durch den Besitzer durchgeführt (EISNER, 1989; CROSSLEY und PENMAN, 1995). Dabei stellen die Zahnerkrankungen bei unseren Haustieren, vor allem bei Hunden, Katzen und Pferden, ein nicht unbedeutendes Problem dar.

2.1.1 Vorkommen und Häufigkeit

Die Inzidenz der Maulhöhlenerkrankungen bei Katzen ist hoch. Oft werden jedoch die Symptome weder vom Besitzer noch vom Tierarzt bemerkt oder sie werden ignoriert, so dass hier eine große Anzahl an Erkrankungen undiagnostiziert bleibt. So berichtet JOHNSTON (1998), dass 70% der Katzen über 2 Jahre von Maulhöhlenerkrankungen betroffen sind. Andere Autoren (THOLEN und HOYT, 1990) schätzen, dass 85% aller Katzen über 6 Jahre von Parodontopathien betroffen sind.

ANON (1996) untersuchte 14.000 Katzen und 39.500 Hunde. Bei jedem Tier wurde eine Diagnose gestellt - wenn das Tier keine Krankheitsanzeichen zeigte, lautete die Diagnose „gesund“. Die Katzen wurden in drei Altersklassen eingeteilt: 0-7 Jahre, 7-10 Jahre und >10 Jahre. In allen drei Altersklassen nahmen die Zahn- und Maulhöhlenerkrankungen den größten Prozentsatz aller Krankheiten ein. Bei den jungen Katzen (0-7 Jahre) wurde häufiger der Befund „gesund“ als „Maulhöhlenerkrankung“ gestellt, in den beiden anderen Altersklassen überwog der Befund „Maulhöhlenerkrankung“ über den Befund „gesund“.

Eine US-amerikanische Studie aus Privatpraxen (LUND et al., 1999) untersuchte die häufigsten Befunde bei Katzen und Hunden über 2 Jahren: Bei Katzen wurde Zahnstein mit einer Prävalenz von 24.2% festgestellt, Gingivitis hatte eine Häufigkeit von 13.1 %. Beide Erkrankungen lagen damit über der Prävalenz für Gesundheit.

2.1.2 Erkrankungen und ihre Wertung

Unter den Erkrankungen der Maulhöhle bei der Katze nehmen die Parodontopathien den Spitzenplatz ein. Parodontopathien sind bei Hunden und Katzen nicht nur die häufigsten Erkrankungen der Maulhöhle, sondern die häufigsten Erkrankungen überhaupt (BUSH, 1998).

2.1.2.1 Parodontopathien

Parodontopathie ist ein Sammelbegriff für Erkrankungen des Zahnhalteapparates, des Parodontiums. Das Parodontium besteht aus dem knöchernen Zahnfach (Alveole), der Wurzelhaut, dem Wurzelzement und dem Zahnfleisch (Abbildung 1). Die Wurzelhaut wird auch als Periodont oder Desmodont bezeichnet. Sie ist ähnlich dem Periost aus einer Summe von Sharpeyschen Fasern aufgebaut und bildet ein bindegewebiges Geflecht zwischen Zahnwurzel und Knochen (EISENMENGER und ZETNER, 1982).

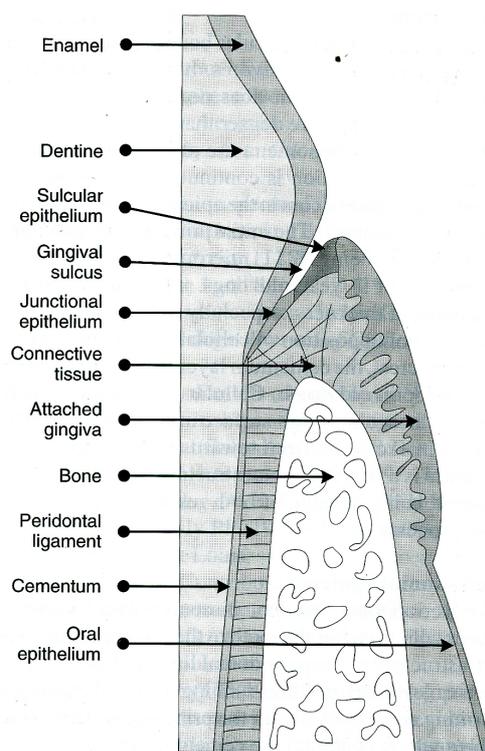


Abbildung 1: Anatomie des Parodontiums

Tierbesitzer beklagen häufig als erstes Symptom von Parodontopathien unangenehmen Maulhöhlengeruch (Halitose) bei ihrer Katze, während Plaque- und Zahnsteinbildung sowie Gingivitis vom Besitzer häufig nicht bemerkt wird (SHIPP und FAHRENKRUG, 1992). Weitere klinische Anzeichen von Parodontopathien sind Schwierigkeiten bei der Futteraufnahme,

Anorexie, Ptyalismus, Kopfschütteln, Verhaltensveränderungen und der Verlust von Zähnen (LEPINE et al., 2003).

2.1.2.1.1 Plaque

Die meisten Erkrankungen der Zähne, des Zahnfleisches und der Kieferknochen beginnen mit der Ansammlung bakterieller Beläge, der Plaque.

Sobald sich der Zahn aus dem Zahnfach geschoben hat, beginnt die mikrobielle Besiedelung seiner Oberfläche. Die Bakterien benutzen verschiedene Polysaccharide (Glucane, Mutane, Dextrane) aus der Nahrung als Haftvermittler zwischen sich und der Zahnoberfläche und bilden einen Biofilm auf dem Zahn. Innerhalb von Tagen, bei manchen Patienten auch schon innerhalb von wenigen Stunden, bildet sich ein Plaquebelag (ZETNER, 1994).

Die Zusammensetzung der Plaqueflora hängt vom Alter der Plaque ab; junge Plaqueflora besteht vorwiegend aus grampositiven, aeroben Bakterien, ältere Plaqueflora vorwiegend aus gramnegativen, anaeroben Bakterien (COLMERY und FROST, 1986; ZETNER, 2002). Außer Bakterien und Polysacchariden enthält Plaque Glycoproteine aus dem Speichel und abgeschilferte Epithelzellen (SHIPP und FAHRENKRUG, 1992).

Aus dem Bakterienstoffwechsel werden Toxine freigesetzt. Diese können sowohl die Gingiva als auch das Periodont schädigen, in die Zirkulation eindringen und zu systemischen Schäden führen. Bakterielle Enzyme (Hyaluronidasen, Kollagenasen) können das Zahnfleischgewebe auflockern und den Zahnhalteapparat zerstören.

2.1.2.1.2 Zahnstein

Zahnstein ist kalzifizierte Plaque. Er besteht bei der Katze - anders als bei Mensch, Hund, Pferd, und Schwein - ausschließlich aus carbonathaltigem Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_3(\text{CO}_3)_3(\text{OH})_2$) das sich in den Rückständen abgestorbener Plaquebakterien einlagert (CLARKE, 1999). Die Mineralsalze werden vom Speichel (supragingivaler Zahnstein) oder der Sulcusflüssigkeit (subgingivaler Zahnstein) geliefert (WHITE, 1997).

Nahe den Ausgängen der Speicheldrüsen findet man am häufigsten Zahnstein (SHIPP und FAHRENKRUG, 1992).

Verschiedene Faktoren beeinflussen die Zahnsteinbildung: genetische Disposition, Mineralkonzentrationen im Speichel, vorzeitige Austrocknung des Speichels mit Ausfall der Mineralsalze (z. B. durch Maulatmung) sowie alkalischer pH in der Maulhöhle (z. B. durch präurämische Zustände) und dadurch Überschreiten des Löslichkeitsprodukts (ZETNER, 2002).

Zahnstein fungiert als mechanischer Reiz, der zu Irritation des Zahnfleisches führen kann (LOGAN, 1998 b), und bietet durch seine poröse Oberfläche Plaquebakterien eine optimale Anhaftungsfläche (GORREL, 1995 a).

2.1.2.1.3 Gingivitis

Unter Gingivitis versteht man die reversible Entzündung des Zahnfleisches.

Eine Ursache für die entzündlichen Veränderungen der Gingiva ist die direkte Toxizität von bakteriellen Stoffwechselprodukten, Enzymen und Toxinen der Plaqueflora.

Des Weiteren wirken die Plaquebakterien auch über die Auslösung von Abwehrmechanismen des betroffenen Organismus schädlich. Durch die Freisetzung von Abwehrstoffen kann eine Gewebeerstörung hervorrufen werden, die bei der Bekämpfung der Bakterien vom Körper in Kauf genommen wird (LISTGARTEN, 1988). In diesem Stadium ist die Gewebeerstörung noch völlig reversibel (KLINGE, 1997).

Die klinischen Anzeichen einer Gingivitis sind Schwellung, Rötung, später auch Blutung und Schmerzhaftigkeit des Zahnfleisches.

2.1.2.1.4 Periodontitis

Als Periodontitis wird eine entzündliche Erkrankung mit Zerstörung der Strukturen des Zahnhalteapparates und irreversiblen Schäden bezeichnet (GORREL, 1995 a). Eine entscheidende Rolle beim Fortschreiten der Gingivitis zur Periodontitis spielen die Immunantwort und die Interaktion mit der vorhandenen Mikroflora. Die Abwehrmechanismen des Organismus sind sinnvoll für die Zerstörung von Fremdmaterial und Mikroorganismen, zerstören dabei aber auch körpereigenes Gewebe. Wenn das Gleichgewicht zwischen Wirt und Mikroorganismus nicht mehr aufrechterhalten werden kann und die Mikroorganismen überhand nehmen, zerstört der Körper durch eigene Abwehrmechanismen sein Gewebe, um die Infektion zu bekämpfen. Dabei kann es zu so massiven Zerstörungen kommen, dass der Zahnhalteapparat irreversibel geschädigt wird (WIGGS und LOBPRISE, 1997).

Klinische Anzeichen der Periodontitis sind Verminderung des epithelialen Attachements, Bildung von Zahnfleischtaschen oder Gingivarezession, Zerstörung des Alveolarknochens mit Zahnlockerung und schließlich Zahnausfall (GORREL, 1995 a).

2.1.2.2 Andere häufige Erkrankungen der Maulhöhle bei Katzen

Weitere sehr häufig vorkommende Erkrankungen der Katzen-Maulhöhle sind die Felinen Odontoklastischen Resorptiven Läsionen (FORL) und die Plasmazellgingivitis (FROST, 1986; ZETNER, 2002), die hier nicht weiter behandelt werden sollen.

2.1.3 Folgen der Parodontopathien

2.1.3.1 Folgen der Parodontopathien für die Maulhöhle

Durch Fortschreiten der Erkrankung zur Parodontitis mit Zerstörung des Zahnhalteapparates kommt es zu den unter 2.1.2.1.4 genannten Symptomen. Häufig gehen diese mit einem unangenehmen Maulgeruch (Halitose) einher, der die Beziehung zwischen Mensch und Tier beeinträchtigt (BUSH, 1998). ZETNER (1994) konnte durch Messung verschiedener Blutparameter (Cortisol, Substanz P, Glucose u.a) vor und nach einer Zahnbehandlung nachweisen, dass Erkrankungen der Maulhöhle auch bei Tieren chronische Schmerzen verursachen. Es kann zu Störungen bei der Futteraufnahme und infolgedessen zu Abmagerung kommen (EISNER, 1989).

2.1.3.2 Folgen der Parodontopathien für den Gesamtorganismus

Als Folge der vermehrten Besiedelung der Maulhöhle mit gramnegativen Bakterien kommt es zum vermehrten Anfall von Endotoxinen (Lipopolysaccharide (LPS) aus der Zellwand der gramnegativen Bakterien) in der Maulhöhle. Diese schädigen lokal das Gewebe, können aber auch durch entstandene Gewebsläsionen bis in den Blutkreislauf gelangen und zu einer Belastung des Organismus mit LPS führen. Außerdem kann es bei Eindringen der Bakterien durch Gewebsläsionen zu Bakteriämie kommen (DE BOWES, 1998 a).

Entzündungen des Periodontiums müssen deshalb wie in der Humanmedizin als Risikofaktor für systemische Erkrankungen angesehen werden. So wurden in der Humanmedizin Zusammenhänge zwischen entzündlichen Erkrankungen in der Mundhöhle und folgenden systemischen Erkrankungen erkannt: Infektiöse Endokarditis, Atherosklerose, Implantatinfektionen (Herzklappen-, Gelenksimplantate), Diabetes Mellitus (erhöhter Insulinverbrauch), Geburt von unreifen, untergewichtigen Kindern („preterm-low-weight-birth infants“), Pneumonien (SCANNAPIECO, 1998).

DEBOWES (1998 c) fand in einer Studie an Hunden einen Zusammenhang zwischen Parodontopathien und histologischen Veränderungen in Leber, Niere und Myokard. Sie konnte einen Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Entzündung in der Maulhöhle und der Häufigkeit des Auftretens histologischer Organveränderungen feststellen.

2.2 Therapie und Prophylaxe der Parodontopathien

Die primäre Ursache der Parodontopathien sind die Mikroorganismen aus der Zahnplaque. Deshalb zielt die Therapie und Prophylaxe vor allem auf Reduzierung und Kontrolle derselben.

2.2.1 Tierärztliche Maßnahmen

2.2.1.1 Plaque- und Zahnsteinentfernung

Die Entfernung von Plaque und Zahnstein ist die Basis aller Parodontaltherapien.

Regelmäßig durchgeführt ist sie auch eine wichtige Prophylaxemaßnahme, um die Entwicklung einer Parodontitis zu verhindern (POLLMEIER, 1994).

2.2.1.1.1 Manuelle Zahnsteinentfernung

Die manuelle Entfernung des Zahnsteins von der Zahnkrone mit einem Scaler wird als Scaling bezeichnet, die Entfernung des Zahnsteins von freiliegenden Wurzeloberflächen als Wurzelglättung. Freiliegende Wurzeloberflächen müssen genau wie die Krone gesäubert und geglättet werden. Oft ist der Wurzelzement aufgeraut (Toxine der Bakterien aktivieren Zementoklasten). Auf der rauen Oberfläche finden Bakterien optimale Anhaftungsbedingungen, außerdem ist die Oberfläche häufig mit Plaquetoxinen angereichert, die ein Reattachement von Zahnfleischgewebe verhindern (ZETNER, 1994).

Die manuelle Entfernung ist vor allem zur Entfernung der subgingivalen Beläge in Zahnfleischtaschen und anderen schwer zugänglichen Bereichen von Vorteil, die mit dem Zahnsteinentfernungsgerät (ZEG) nur unzureichend gereinigt werden können.

Die manuelle Entfernung ruft im Allgemeinen keine so deutlichen Schmelzläsionen hervor wie das ZEG und auch die Gefahr der Pulpaüberhitzung ist nicht gegeben. Mit Zahnsteinentfernungsangen können Beläge auch am wachen Tier zumindest oberflächlich entfernt werden, wenn der Allgemeinzustand keine Narkose erlaubt. Allerdings sind die Zahnsteinentfernungsangen für Katzen und kleine Hunde häufig so groß, dass ihre Anwendung vom wachen Tier nicht toleriert wird.

Der größte Nachteil der manuellen Zahnsteinentfernung ist der deutlich größere Zeitaufwand gegenüber der Zahnsteinentfernung mit dem Zahnsteinentfernungsgerät (POLLMEIER, 1994).

2.2.1.1.2 Maschinelle Zahnsteinentfernung

Verschiedene Arten von Zahnsteinentfernungsgeräten sind beim Kleintier gebräuchlich: magnetostruktive Ultraschallgeräte, piezoelektrische Geräte, ferritstabbetriebene Geräte, luftbetriebene Schallwandler und der Roto-Pro®-Einsatz für die Turbine.

Besonders geeignet für den Einsatz beim Kleintier sind die ersten drei der genannten Geräte. Luftbetriebene Geräte sind nur wenig effektiv, und bei der Verwendung des Roto-Pro® Einsatzes ist die Gefahr der Schädigung der Zahnhartsubstanz groß.

Bei der Benützung eines Ultraschallgerätes können Temperaturen von bis zu 360° C erreicht werden, die den Schmelz verbrennen und die Pulpa schädigen (ZETNER, 1994). Eine weitere Gefahr ist die Entstehung von Schmelz- und Zementschäden durch scharfe Kanten an der Arbeitsspitze. Diese Löcher und Kratzer in der Zahnoberfläche sind mit bloßem Auge kaum sichtbar, fördern aber durch ihre raue Oberfläche die Wiederansammlung von Plaque und Zahnstein (ZETNER, 1994).

Moderne Ultraschallzahnsteinentfernungsgeräte erlauben auch die subgingivale Anwendung, dabei muss aber auf die Verwendung von speziellen Arbeitsspitzen für den subgingivalen Bereich geachtet werden. Eine manuelle Nachbearbeitung ist vor allem in diesem Bereich sinnvoll (NIEMIEC, 2003).

Relativ neu ist die zusätzliche Verwendung von Produkten, die die Entfernung des Zahnsteins erleichtern sollen (z. B. Sofscale™). Diese Produkte enthalten chelatbildende (Ca-Chelatoren) und detoxifizierende Substanzen. In Versuchen wurde aber gezeigt, dass keine nennenswerte Zeitersparnis bei der Zahnsteinentfernung durch die Anwendung von Sofscale vor der Behandlung erreicht werden konnte (WIGGS et al., 1994).

2.2.1.2 Politur

Nach jeder Zahnsteinentfernung (manuell oder maschinell) sollte eine Politur durchgeführt werden. Die Zahnoberfläche ist durch die Zahnsteinentfernung mikroskopisch sichtbar aufgeraut (DIETRICH, 1976) und bietet so optimale Anhaftungsbedingungen für Plaquebakterien. Die Plaque- und Zahnsteinbildung wird beschleunigt. Durch die Politur wird die Zahnoberfläche geglättet und die erneute Anhaftung von Plaque und Zahnstein erschwert und verzögert (EMILY und PENMAN, 1990; POLLMEIER, 1994).

Da Tiere eine geringere Lebenserwartung haben und in der Regel seltener eine Politur erhalten als Menschen, ist die Abrasion der Zahnoberflächen durch Polierpasten unproblematisch. Durch die Politur mit sehr feinen Poliermitteln sind auch schwer

zugängliche Bereiche erreichbar, zum Beispiel im Bereich der Zahnzwischenräume und in Einkerbungen der Zähne (WIGGS und LOBPRISE, 1997).

2.2.1.3 Spülung des gingivalen Sulcus

Nach der Politur müssen Reste der Polierpaste sorgfältig durch Spülung des gingivalen Sulcus entfernt werden. Die Spülung wird mit Wasser, Kochsalzlösung, verdünnter Chlorhexidin-Lösung oder verdünnter Fluoridlösung durchgeführt (WIGGS und LOBPRISE, 1997).

Die sorgfältig durchgeführte Lavage beseitigt alle Reste der Polierpaste und eventuell noch vorhandene Debris (Plaque, Zahnsteinfragmente etc.) aus dem gingivalen Sulcus und verhindert so eine Irritation des Gewebes durch Fremdkörper. Dadurch kann Abszessbildung und Entzündungsreaktionen vorgebeugt werden (NIEMIEC, 2003).

2.2.1.4 Fluoridierung

Eine Fluoridierung wird von DEBOWES (1998 b) im Hinblick auf die Remineralisation freigelegten Zements besonders bei Katzen empfohlen. NIEMIEC (2003) empfiehlt sie bei Hund und Katze besonders bei freiliegendem Dentin.

Zur Fluoridierung sind Fluorlacke oder Fluorschäume erhältlich. Fluor härtet die Zahnoberfläche, wirkt prophylaktisch gegen die Anheftung der Plaquebakterien und desensibilisiert empfindliche Zähne. Weitere Effekte der Fluoridierung sind die Verzögerung der Bildung von Felinen Odontoklastischen Resorptiven Läsionen, eine antibakterielle Wirkung und ein schmelzprotektiver Effekt (WIGGS und LOBPRISE, 1997; NIEMIEC, 2003)

YOON UND NEWMAN (1980) untersuchten die antibakterielle Wirkung verschiedener Fluorverbindungen an Untergruppen von *Bacteroides melaninogenicus* und *Bacteroides assaccharolyticus* und fanden, dass Zinnfluorid (SnF_2) anderen Fluoriden (saurem Phosphatfluorid und neutralem Natriumfluorid) in seiner bakteriziden Wirkung überlegen ist.

Auf das Abspülen der Fluorpräparate sollte wegen der möglichen Inaktivierung des Fluors verzichtet werden (WIGGS und LOBPRISE, 1997).

ALLER (1993) warnt vor der Fluortoxizität bei Überdosierung, bzw. mangelnder Ausscheidungsfähigkeit des Patienten (Niereninsuffizienz) und beschreibt Anzeichen der Fluorintoxikation, bei Risikopatienten rät er von der Fluorbehandlung ab.

2.2.1.5 Antibiotische Therapie

Eine antibiotische Therapie sollte nie als Ersatz für eine gründliche Zahnreinigung verwendet werden, kann aber als zusätzliche Maßnahme sinnvoll sein (WIGGS und LOBPRISE, 1997).

Antibiotika werden lokal oder systemisch eingesetzt. Als Indikationen für die systemische Anwendung sieht ZETNER (1994) die prophylaktische Anwendung vor Eingriffen in der Maulhöhle und den therapeutischen Einsatz zur Verbesserung der Heilung nach dem Eingriff.

Prophylaktische Anwendung:

Zum Schutz des Patienten vor einer Bakteriämie unter der Behandlung wird im Voraus durch die antibiotische Therapie die Bakterienanzahl zurückgedrängt und damit die Wahrscheinlichkeit einer systemischen Abschwemmung der Bakterien vermindert.

Die prophylaktische Antibiotikagabe ist in der Humanmedizin bei Patienten mit Nierenerkrankungen, Herzerkrankungen oder Diabetes Mellitus beschrieben (FINE et al., 1998). Besonders gefährdete Tiere (Alter, bekannte Herzklappenerkrankung, Glomerulonephritis) sollten laut HENNET (1991) und WIGGS UND LOBPRIZE (1997) vor jeder Zahnbehandlung prophylaktisch antibiotisch behandelt werden.

HARARI et al. (1991) fanden in Experimenten an Katzen nur bei 36% der untersuchten Tiere Bakterien in den unter der Zahnbehandlung entnommenen Blutproben. Keine der Katzen zeigte nach der Zahnbehandlung Krankheitsanzeichen. Die prophylaktische Verabreichung eines Antibiotikums wird von HARARI bei gesunden Katzen nicht empfohlen.

Ein weiterer Grund für den prophylaktischen Einsatz von Antibiotika ist der Schutz des Operateurs. In Untersuchungen an der Veterinärmedizinischen Universität Wien konnte gezeigt werden, dass bei der Zahnsteinentfernung durch die Anwendung von Ultraschallzahnsteinentfernungsgaräten große Mengen Bakterien durch den feinen Sprühnebel in die Raumluft gelangen. Von dort aus kommt es zur Absenkungen auf alle Gegenstände im Raum und zur Belastung des Operateurs (EISENMENGER, 1984). Durch eine vorhergehende antibiotische Therapie kann diese bakterielle Belastung deutlich reduziert werden (ZETNER und THIEMANN, 1993 b).

Therapeutische Anwendung:

Der zusätzliche Einsatz eines Antibiotikums nach der Zahnreinigung wurde in einer Studie von MISCHKE ET AL. (1992) untersucht. Sie fanden eine deutlich stärkere Verringerung der Entzündungssymptome bei begleitender Clindamycintherapie als in der Kontrollgruppe, die nur eine Zahnreinigung erhalten hatte.

WIGGS UND LOBPRIZE (1997) empfehlen die alleinige antibiotische Therapie auch für Fälle, in denen der Besitzer keine Zahnreinigung wünscht oder das Tier aufgrund seines Allgemein-

zustandes anderen Therapiemöglichkeiten nicht unterzogen werden kann. ZETNER (1994) dagegen verweist explizit darauf, dass eine antibiotische Therapie nur temporär prä- oder postoperativ angewendet werden sollte.

Voraussetzung für die Wirksamkeit einer systemischen Antibiotikungabe in der Maulhöhle sind ein hoher Speichelspiegel und die Wirksamkeit gegen die aeroben und anaeroben Keime in der Maulhöhle. Plaquebakterien sind über die Blutbahn kaum erreichbar, so dass dem Speichelspiegel eine besondere Bedeutung zukommt (ZETNER, 1994)

In der Maulhöhle bevorzugt verwendete Antibiotika sind nach HENNET (1995) Clindamycin, Spiramycin + Metronidazol, Amoxicillin + Clavulansäure und Doxycyclin.

ZETNER (2002) zieht aus folgenden Gründen Clindamycin den anderen Wirkstoffen vor: Clindamycin erreicht hohe Konzentration in Speichel, Gingiva und Sulkusflüssigkeit. Des Weiteren ist Clindamycin in der Lage, Biofilme wie Plaque zu durchdringen. Auch in Knochengewebe wird ein wirksamer Spiegel erreicht, so dass Clindamycin gerne bei Periodontalerkrankungen, bei denen auch der Alveolarknochen betroffen ist, eingesetzt wird.

Lokale Anwendungsmöglichkeiten von Antibiotika in der Maulhöhle haben den Vorteil der gezielteren Anwendung. Am Ort der Infektion können deutlich höhere Wirkstoffspiegel erreicht werden als bei systemischer Anwendung, ohne den gesamten Organismus zu belasten. Dazu wurden Applikationsarten, z. B. Gele, entwickelt, die eine lange Kontaktzeit ermöglichen (CLELAND, 2000).

Der langzeitige Gebrauch von Antibiotika kann zur Resistenzbildung führen (WIGGS und LOBPRISE, 1997). Die Maulhöhle ist natürlicherweise von Bakterien besiedelt. Wird die natürliche Flora durch antibakterielle Therapie über längere Zeit gestört, kann es zur Ansiedelung von Pilzen (v.a. *Candida sp.*) kommen (FROST, 1986).

2.2.2 Zahnpflege durch den Besitzer

2.2.2.1 Allgemeines

Die Zahnpflege durch den Besitzer ist von großer Bedeutung in der Prävention und Prophylaxe von Periodontalerkrankungen (AUVIL, 2002). HALE (2002) und GORREL (2000) betonen die Rolle des Besitzers für die Prävention und Langzeitkontrolle periodontaler Erkrankungen. HALE sieht in der täglichen Zahnpflege durch den Besitzer einen viel höheren Einfluss auf die Langzeitprognose als durch eine jährliche tierärztliche Behandlung.

Allerdings kann die Zahnpflege durch den Besitzer die regelmäßige Untersuchung und Behandlung durch den Tierarzt nicht vollständig ersetzen oder vorhandene Erkrankungen heilen, sondern nur die Neubildung von Plaque und Zahnstein verzögern (HALE, 2003). Erstes

Ziel der häuslichen Zahnpflege muss die Verminderung der Plaqueakkumulation sein (LOGAN et al., 1998 c).

2.2.2.2 Chemische Plaquebekämpfung

Chemische Plaqueinhibitoren werden in vielen verschiedenen Variationen angeboten. Keiner kann jedoch die Plaquebildung dauerhaft verhindern. Eine Verzögerung der Plaqueansammlung ist jedoch, in unterschiedlichem Maße, möglich (HALE, 2002).

Chlorhexidinhaltige Produkte:

Der am häufigsten verwendete und am besten untersuchte antimikrobielle Wirkstoff in der Zahnmedizin ist Chlorhexidin (HALE, 2002). Chlorhexidin gehört chemisch zu der Familie der Biguanide und hat in geringen Dosen einen bakteriostatischen, in hohen Dosen einen bakterioziden Effekt. Das Wirkspektrum ist breit und umfasst grampositive und gramnegative Keime sowie Pilze, insbesondere *Candida* spezie (GRUET et al., 1995).

Der Wirkmechanismus ist unspezifisch, Chlorhexidin dringt in mikrobielle Zellen ein, präzipitiert Zellbestandteile und führt so zum Zelltod.

Die Toxizität von Chlorhexidin ist gering, systemische Nebenwirkungen wurden nicht beobachtet (HULL, 1980). Die am häufigsten beobachtete lokale Nebenwirkung ist eine bräunliche Verfärbung der Zähne bei regelmäßiger Anwendung. Diese Verfärbungen können aber durch Politurmaßnahmen wieder vollständig entfernt werden (HALE, 2001). Ein Nachteil bei der Anwendung ist der bittere Geschmack, der zu Akzeptanzproblemen vor allem bei Katzen führt. Weitere Nachteile sind die Inaktivierung durch andere Salze und organische Materialien, sowie eine eventuelle Beeinträchtigung des Geschmacksinnes (AUVIL, 2002). Die Wirksamkeit chlorhexidinhaltiger Produkte konnte in vielen Studien bewiesen werden (GRUET et al., 1995; HENNET, 2002).

Enzymhaltige Produkte:

Das am häufigsten verwendete Enzymsystem in der Zahnmedizin ist das Glucose Oxidase-Lactoperoxidase-System. Dieses Enzymsystem ist einer der natürlichen Abwehrmechanismen im Speichel von Hunden und Menschen. Die Lactoperoxidase katalysiert die Oxidation des Thiocyanations zum Hypothiocyanation. Dieses hat antibakterielle Eigenschaften in der Maulhöhle (ALLER, 1993). Durch Zugabe dieser Enzyme in Zahnpflegeprodukte soll die Wirkung der natürlichen Lactoperoxidase verstärkt werden.

Ob das Enzym auch bei der Katze im Speichel vorkommt, ist nicht gesichert. Die Wirkung solcher Produkte wird von HALE (2002) angezweifelt, da es keine placebokontrollierte Studien zur Ermittlung der Wirksamkeit gibt.

TENOVUO ET AL. (2000) untersuchten die Auswirkungen eines Zahngels mit Lactoperoxidase, Lysozym, Lactoferrin und Amylase auf die Speichelzusammensetzung bei Hunden und konnten keine Verbesserung der nicht-immunologischen Abwehrmechanismen feststellen. Sie kommen damit zu einem ähnlichen Ergebnis wie humanmedizinische Untersuchungen und sehen die Anwendung solcher Produkte nur bei gestörtem Speichelfluss (Xerostomie) für sinnvoll an.

Zinkhaltige Produkte:

Zink hat eine hervorragende antimikrobielle Wirkung sowohl gegen grampositive als auch gegen gramnegative Keime (HARRUP et al., 1983). Außerdem wirkt es adstringierend und fördert die Wundheilung. CLARKE (2001) untersuchte die klinischen und mikrobiologischen Effekte eines Zinkaskorbat-Gels an Katzen und konnte eine signifikante Verringerung des Bakterienwachstums, der Plaquebildung und der Gingivitis feststellen.

Durch die Oxidation flüchtiger Fettsäuren in der Maulhöhle und die Chelatierung von flüchtigen Schwefelverbindungen soll das Gel auch gegen Halitose helfen (AUVIL, 2002).

Das Gel ist geschmacklos, alkoholfrei und wird auch von Katzen gut toleriert. Allerdings kann durch Zink die Salivation angeregt werden, und es kann zum unangenehmen Schäumen kommen (HALE, 2002).

Wachs:

HALE (2002) beschreibt ein wachsartiges Polymer, das nach der professionellen Zahnreinigung auf die sauberen Zähne aufgebracht wird. Das Gel bildet eine hydrophobe Schutzschicht auf dem Zahn, die die Anhaftung von Plaquebakterien verhindern soll. Das Wachs wird schichtweise durch Futteraufnahme, Benutzung von Zahnbürsten und Kauspielzeugen abgetragen. Der Besitzer kann dann mit einem weniger viskosen Wachs selbst eine neue Schutzschicht am wachen Tier aufbringen.

HALE empfiehlt die Benutzung vor allem nach chirurgischen Eingriffen in der Maulhöhle, bei denen keine mechanische Reinigung möglich ist, um die Wundheilung nicht zu stören.

2.2.2.3 Mechanische Plaquebekämpfung

Zähneputzen:

Die effektivste Methode zur mechanischen Beseitigung von Zahnbelägen ist das tägliche Zähneputzen (GORREL, 2000). In einer vierjährigen Studie an Beagles konnte bewiesen werden, dass durch täglich zweimaliges Zähneputzen die Entstehung von Gingivitis verhindert werden kann (LINDHE et al., 1975). Wie häufig die Zähne bei Hunden und Katzen geputzt werden sollten, ist umstritten (AUVIL, 2002). In einer Studie an Hunden mit gesunder Gingiva war dreimal wöchentliches Putzen ausreichend, um den Gesundheitszustand des Zahnfleisches zu erhalten (TROMP et al., 1986 a). Bei Hunden mit experimenteller Gingivitis gelang es jedoch nur durch tägliches Zähneputzen die Gingivitis zurückzudrängen und ein gesundes Zahnfleisch zu erhalten (TROMP et al., 1986 b). GORREL UND RAWLINGS (1996 b) versuchten bei Hunden jeden zweiten Tag Zähne zu putzen, konnten damit aber nicht die Entstehung einer milden Gingivitis verhindern.

INGHAM ET AL. (2002 b) untersuchten den Effekt des täglichen Zähneputzens bei Katzen in einer zweijährigen Studie. Sie fanden eine geringgradige, statistisch nicht signifikante Reduzierung der Gingivitis in der Katzengruppe, in der die Zähne geputzt wurden.

Die meisten Empfehlungen raten bei gesundem Zahnfleisch zu mindestens dreimal wöchentlichem Putzen (AUVIL, 2002).

Der Erfolg des Zähneputzens hängt stark mit der Kooperation des Tieres und der Motivation des Besitzers zusammen. Deshalb sollte das Zähneputzen dem Tier so früh wie möglich beigebracht werden (GORREL, 2000). Es gibt für Hunde und Katzen viele verschiedene Zahnbürstenformen und verschiedene Härtegrade der Borsten, die zum Tier passend ausgewählt werden sollten, um eine sichere, effektive und angenehme Reinigung zu ermöglichen. Für Anleitungen zur Gewöhnung von Katzen und Hunden an das Zähneputzen wird auf die Literatur verwiesen (GORREL, 1995b; GORREL, 2000; EISNER, 2003).

Die Vorteile des Zähneputzens beruhen auf der Effektivität und den geringen Kosten. Zu den Nachteilen zählen die unter Umständen schwierige Durchführung und die potentielle Verletzungsgefahr für Mensch und Tier bei unsachgemäßer Handhabung (LOGAN, 1998 a).

Zahnpasta:

Der Gebrauch einer Zahnpasta beim Zähneputzen wird zwar empfohlen, ist aber nicht unbedingt nötig, da die Plaque hauptsächlich durch den mechanischen Vorgang des Zähnebürstens und weniger durch die Inhaltsstoffe der Zahnpasta entfernt wird (GORREL, 2000;

AUVIL, 2002). Nach LOGAN (1998 a) können Zahnpasten aber suboptimale Putztechniken in gewissen Grenzen kompensieren.

Viele der angebotenen Tierzahnpasten sind auf den Geschmack von Hunden und Katzen abgestimmt und können die unbedingt nötige Compliance des Tieres fördern (HALE, 2002; EISNER, 2003). Tierzahnpasten beinhalten häufig abrasive Stoffe, um die mechanische Reinigung durch die Bürste zu unterstützen (u.a. Calcium, Silicate) sowie chemische Zusätze mit antibakterieller Wirksamkeit zur Unterstützung der Plaqueentfernung (EISNER, 2003).

EISNER warnt vor dem Einsatz von sehr salzhaltigen Zahnpasten (z. B. „baking soda“) bei älteren, herzinsuffizienten Tieren. Der Einsatz von humanmedizinischen Zahnpasten kann bei Tieren zu Gastritis führen (WIGGS und LOBPRIDE, 1997) und die Schaumbildung durch den Zusatz von Detergentien wird von den meisten Tieren als unangenehm empfunden (AUVIL, 2002). Auch die häufig enthaltenen ätherischen Öle können gesundheitsschädlich für die Tiere sein (ZETNER, 1994).

GORREL (2000) warnt vor dem Einsatz von humanmedizinischen Zahnpasten wegen deren hoher Fluoridgehalte und der damit verbundenen Gefahr der Fluorintoxikation durch Schlucken der Zahnpasta.

Im Handel erhältlich sind auch Zahnpasten, die zur Anwendung ohne Bürsten gedacht sind. Diese enthalten spezielle Putzkörper, die vom Tier selber mit Zunge und Lefzen verteilt werden und so laut Herstellerangabe mechanisch reinigen sollen (CP-PHARMA, 2002).

Kauknochen und Kauspielzeuge:

Kauknochen und -spielzeuge sind insbesondere für Hunde weit verbreitet und können zur zusätzlichen Reinigung der Zähne eingesetzt werden. Sie sind jedoch nicht so effektiv wie das Zähnebürsten und sollten deshalb nicht als Ersatz verwendet werden (GORREL, 2000; HALE, 2001; AUVIL, 2002).

Kauprodukte maximieren die Selbstreinigung der Zähne durch Abrieb von Plaque und stimulieren den Speichelfluss. Vor Knochen als Kaumaterial wird nicht nur aus verdauungsphysiologischen Gründen gewarnt. Die Gefahr von Zahnfrakturen und Gingivaverletzungen beim Kauen harter Knochen ist groß (GORREL, 2000). Generell sollten Kaumaterialien immer weicher als die Zähne sein (EISNER, 2003).

HARVEY et al. (1996) untersuchten den Einfluss von Diät und Zugang zu Kaumaterial auf die Zahngesundheit bei 1350 Hunden in Nordamerika. Die Studie kommt zu dem Ergebnis, dass Hunde, die regelmäßigen Zugang zu Kaumaterialien haben, weniger Zahnstein und Gingivitis zeigen als Hunde, die kaum Gelegenheit zum Kauen haben.

GORREL untersuchte die Auswirkungen eines Kauknochens zur Zahnhygiene auf Plaque, Zahnstein und Gingivitis in zwei Studien an Hunden. Sie konnte in der Kurzzeitstudie eine signifikante Reduzierung der Werte für die genannten Parameter feststellen (GORREL und RAWLINGS, 1996 a). Die Langzeitstudie zeigte ähnliche Ergebnisse, die Gingivitis näherte sich jedoch in Ihrem Schweregrad nach 18 Monaten an den der Kontrollgruppe ohne Kauknochen an (GORREL, 1999). Die Autorin schließt aus den Ergebnissen der Langzeitstudie, dass die regelmäßige Verabreichung des Kauknochens die Intervalle zwischen den professionellen Zahnreinigungen verlängern kann.

Auch für Katzen sind Kaumaterialien erhältlich. INGHAM et al. (2002 a) untersuchten ein Kauprodukt für Katzen und fanden bei täglicher Zugabe zu normalem Futter eine Reduzierung der Plaque- und Zahnsteinansammlung sowie eine Verringerung des Schweregrades der Gingivitis. GORREL et al. (1998) untersuchten enzymhaltige Kauröllchen für Katzen und konnten bei täglicher Verabreichung eine Verringerung der Plaque und Zahnsteinansammlung im Vergleich zur Kontrollgruppe feststellen, die keine Kauröllchen erhielt. Bei allen Kaumaterialien für Katzen ist jedoch zu beachten, dass Katzentähne hauptsächlich zum Beißen und Zerreißen der Nahrung geschaffen sind und nicht zum Kauen (MILLS, 1992).

2.2.2.4 Diätetische Plaquebekämpfung

Seit einigen Jahren wird über die Zusammenhänge zwischen der Fütterung von Hunden und Katzen und der Entwicklung von Parodontopathien diskutiert. Es ist auffällig, dass durch die Fütterung kommerzieller Diäten viele Krankheiten nahezu der Vergangenheit angehören (Mangelerkrankungen, Erkrankungen durch Nährstoffimbancen), dass aber die Parodontopathien ein ernstes Problem geblieben sind (WATSON, 1994).

Einflüsse der Futtertextur auf Parodontopathien

WATSON (1994) erwähnt Untersuchungen von 1923 die berichten, dass Hunde, die nur weiches Futter bekamen und wenig kauen mussten, häufiger und stärker von Parodontopathien betroffen waren. Um diese Einschätzung zu untersuchen, wurden viele Studien an Hunden und Katzen durchgeführt.

Folgende Studien an Katzen konnten diesen Verdacht erhärten:

STUDER UND STAPLEY (1973) fütterten zwei Gruppen von Katzen, eine davon mit Feuchtfutter, die andere Gruppe mit Trockenfutter. Die mit Feuchtfutter gefütterte Gruppe entwickelte Halitose, Gingivitis, Plaque, Zahnstein und Gingivarezession. Bei der mit Trockenfutter gefütterten Gruppe wurde nur geringgradige Gingivitis und Plaquebildung

gefunden. Auch BOYCE (1992) kam in einer Studie zu dem Ergebnis, dass mit Feuchtfutter ernährte Katzen eine stärkere Plaqueakkumulation aufwiesen als solche, die mit Trockenfutter ernährt wurden.

Trockenfutter erfordert im Vergleich zu Feuchtfutter längeres Kauen und regt die Speichelproduktion an. Speichel enthält viele antimikrobielle Enzyme und Substanzen (Lysozym, Lactoferrin, Peroxidase) und reinigt die Maulhöhle auch durch seine spülende Wirkung (GORREL, 2001).

Faserreiches Futter kann helfen, Plaque von den Kauflächen mechanisch zu entfernen. Der Bereich in der Nähe des Zahnfleischsaumes, der für die Entstehung von Parodontopathien so wichtig ist, wird dabei aber nicht wirksam gereinigt.

Spezielle Diätfutter zur Gesunderhaltung der Zähne haben gegenüber Standardfuttern eine deutlich bessere Wirksamkeit auf die Zahngesundheit. (LOGAN, 1997; LOGAN, 2002).

LOGAN et al. (1997) untersuchten verschiedene Katzenfutter und verglichen ihren Einfluss auf Plaque und Zahnsteinbildung mit dem einer speziellen Zahndiät. Durch die Zahndiät konnte eine hochsignifikante Reduktion der Plaque- und Zahnsteinakkumulation im Vergleich zu normalem Feucht- und Trockenfutter erreicht werden.

Erreicht wurde diese Wirkung durch eine spezielle Struktur der „Kibbles“. Die Stückchen wurden vergrößert, so dass sie vor dem Schlucken zerbissen werden müssen. Durch das harte aber nicht spröde Material sinken die Zähne tief in den Bissen ein, bevor er bricht. Dabei wird durch die enthaltenen Fasern die Zahnoberfläche abgerieben und Plaque entfernt. Nachteil des faserreichen Futters ist jedoch die relativ geringe Energiedichte, die den Einsatz eines solchen Futters bei hohem Kalorienbedarf (Wachstum, Gestation, Laktation, usw.) einschränkt (HALE, 2002).

Ein weiterer Kritikpunkt an diesen Diätfuttern ist die Tatsache, dass nur die Zahnoberflächen gereinigt werden, die tatsächlich Kontakt zum Futter haben. Bei Tieren, die das Futter ohne vorheriges Kauen abschlucken, ist die Wirksamkeit vermindert (IAMS, 2002).

Ein relativ neuer Ansatz zur Kontrolle der Zahnsteinbildung ist der Einsatz von nutritiven Polyphosphaten (v.a. Hexametaphosphat). Sie werden in mikrokristalliner Form auf die Futteroberfläche aufgebracht und während des Kauens in der gesamten Maulhöhle verteilt. Während des Kauens wird Plaque durch die Mikrokristalle von den Kauflächen abgerieben. Die freigesetzten Kristalle lagern sich in vorhandene Plaque ein und verhindern die Mineralisation zu Zahnstein. Da die Polyphosphate nur langsam abgebaut werden, hält dieser Effekt auch über die Dauer der Futteraufnahme hinaus an (JOHNSON et al., 2002; LEPINE et al., 2003).

JOHNSON et al. (2002) untersuchte die Auswirkungen eines Futters mit „Micro Cleaning Crystals“ (MCC) aus Polyphosphaten auf die Plaque- und Zahnsteinakkumulation an Hunden und Katzen. Er konnte eine Reduktion der Zahnsteinakkumulation um 55% bei Hunden und um 45% bei Katzen feststellen. Die Reduktion war auch an Zahnflächen sichtbar, die nicht beim Kauen beansprucht wurden.

Einfluss von Futterinhaltsstoffen auf Parodontopathien

GORREL (2001) führt folgende Möglichkeiten zur positiven Beeinflussung von Parodontopathien durch Futterinhaltsstoffe auf:

- ⇒ Der Einsatz antimikrobiell wirkender Inhaltsstoffe führt zu Plaquereduktion und dadurch zur Reduktion der Gingivitis.
- ⇒ Durch den Einsatz von Inhaltsstoffen mit antiinflammatorischer Wirkung kann es zur Verringerung der Immunreaktion auf Gewebeerstörung und dadurch zur Verminderung der immunvermittelten Schädigung des Zahnfleisches kommen.
- ⇒ Eine immunmodulatorische Wirkung der Inhaltsstoffe kann die Immunantwort dahingehend optimieren, dass die protektiven Immunreaktionen über die selbstzerstörerischen überwiegen.
- ⇒ Antioxidative Wirkungen der Inhaltsstoffe können zur Verminderung der Gewebeschädigung durch freie Radikale führen, die durch die Abwehr- und Entzündungsreaktionen entstehen, und so zum Schutz des Gewebes vor bakterieller Schädigung beitragen.

2.2.3 Compliance mit den Prophylaxemaßnahmen

Für den Erfolg von Prophylaxemaßnahmen ist sowohl die Compliance des Besitzers, als auch die Kooperationsbereitschaft des Patienten wichtig.

MILLER UND HARVEY (1994) untersuchten, wieviele Hundebesitzer nach entsprechender Anleitung und Ausstattung mit Zahnbürste und Zahnpasta tatsächlich über einen längeren Zeitraum hinweg ihrem Hund die Zähne bürsteten. Nach sechs Monaten bürsteten noch 53% der befragten Besitzer mehrmals wöchentlich. 38% bürsteten gar nicht mehr. 20% hatten wegen mangelnder Kooperation des Hundes, 12% aus persönlichen Gründen aufgehört. 6 % hatten überhaupt nicht angefangen, ihrem Hund die Zähne zu putzen.

Katzen sind häufig weniger kooperativ bezüglich Prophylaxemaßnahmen als Hunde (AUVIL, 2002). JOHNSTON (1998) weist auf die Herausforderung hin, die die Durchführung von Prophylaxemaßnahmen bei der Katze darstellt.

In einer Umfrage der AVDS (American Veterinary Dental Society) berichteten 93% der befragten Tierärzte, dass von ihren Kunden weniger als 20% Prophylaxemaßnahmen bei ihrer Katze zu Hause durchführen. Mit viel Training und Geduld können aber die meisten Katzen daran gewöhnt werden, sich die Zähne putzen zu lassen (FROST, 1986; EISNER, 2003).

Alle Prophylaxemaßnahmen, bei denen der Besitzer Manipulationen in der Maulhöhle vornimmt, bergen eine Verletzungsgefahr sowohl für den Besitzer als auch für das Tier (LOGAN, 1998 a).

Bei unkooperativen Tieren und/oder geringer Besitzer-Compliance bietet ein Diätfutter Vorteile. Es ist bequem und gefahrlos vom Besitzer anzuwenden, bedeutet keinen zeitlichen Mehraufwand und besitzt in der Regel eine hohe Akzeptanz bei Tier und Besitzer (LOGAN, 1998 a). Die Verabreichung von Diätfuttern, die mit antibakteriellen, antiinflammatorischen und antioxidativen Inhaltsstoffe gegen Plaquebildung und Parodontopathien vorgehen, scheint eine gelungene Möglichkeit zu sein, die Zahnhygiene von Katzen zu verbessern. Diese Möglichkeit der Zahnhygiene erfordert kein lang andauerndes Kauen wie die mechanische Reinigung und ist für den Besitzer trotzdem einfach und komplikationslos in der Anwendung. Die Akzeptanz des Futters muss beim Zusatz der plaqueinhibitorischen Substanzen jedoch gewährleistet bleiben.

2.3 Lactoferrin

2.3.1 Ursprung und Vorkommen

Lactoferrin (LF) ist ein eisenbindendes Glycoprotein der Transferrin-Familie. Es wurde 1960 erstmals von JOHANSSON (1960) und GROVES (1960) als so genanntes „Lactosiderophilin“ aus humaner Milch isoliert und inzwischen außer beim Menschen noch in verschiedenen anderen Säugetierspezies (Rind, Büffel, Schwein, Pferd, Ziege, Maus) nachgewiesen. Im menschlichen Körper kommt LF in zwei verschiedenen Reservoiren vor, einem stationären Pool auf den Schleimhautoberflächen und einem zirkulatorischen Pool in den polymorphkernigen, neutrophilen Leukozyten (PMN). Das Lactoferrin des stationären Pools stammt aus den Absonderungen der exokrinen Drüsen des Respirations-, Digestions- und Reproduktionstraktes (u.a. Bronchialschleim, Tränenflüssigkeit, Speichel, Vaginalsekret). Diese Lokalisation legt eine Rolle des Lactoferrins in der unspezifischen Abwehr von Pathogenen nahe (NAIDU, 2000; STEIJNS und VAN HOOIJDONK, 2000).

Das LF in den zirkulierenden Leukozyten ist in Granula gespeichert und wird bei der Degranulation des Leukozyten freigesetzt. Die normalerweise geringe LF- Konzentration im

Plasma steigt bei Infektionen und Entzündungen durch die vermehrte Degranulation der Leukozyten an (BROCK, 2002).

2.3.2 Chemie und Biochemie

Das Glycoprotein Lactoferrin (LF) besteht aus einer einsträngigen Kette von 692 Aminosäuren und zwei N-glycosidisch gebundenen Glykanen. Die Aminosäurenkette ist in zwei homologe Lappen gefaltet, den N-terminalen und den C-terminalen Lappen. Jeder Lappen besteht aus zwei Domänen, die zwischen sich eine Spalte formen. In Anwesenheit eines Bicarbonat- oder Carbonat-Anions kann in der Spalte ein Fe^{3+} -Ion reversibel gebunden werden (NAIDU, 2000). Die homologen Lappen sind durch eine kurze Alpha-Helix Struktur verbunden.

Im Körper vorkommendes Lactoferrin ist nur zu 15-20% mit Eisen gesättigt. Lactoferrin mit weniger als 5% Eisensättigung wird als apo-Lactoferrin bezeichnet, gesättigtes Lactoferrin als holo-Lactoferrin (STEIJNS und VAN HOOIJDONK, 2000). Die Affinität des Lactoferrins zu Eisen ist sehr hoch, es behält auch bei niedrigem pH-Wert die Fähigkeit, Eisen zu chelatieren und zu binden. Die Abgabe des Eisens erfolgt erst bei einem pH-Wert kleiner 4 (bovines LF) bzw. 3 (humanes LF). Dies ist wichtig für die physiologische Funktion des LF in septischen Gebieten, in denen durch Ansammlung von Stoffwechselprodukten ein niedriger pH-Wert herrscht.

Lactoferrin-Metabolismus:

Lactoferrin aus der Milch wird im Digestionstrakt des Neugeborenen abgebaut. Das Ausmaß und die genaue Lokalisation des Abbaus im Digestionstrakt sind noch unklar und variieren vermutlich zwischen den Spezies und auch mit dem Alter des Säuglings. Ein partieller Abbau des Lactoferrins kann zur Entstehung von Peptiden wie dem Lactoferricin führen, die über eine starke biologische Aktivität verfügen (WEINBERG, 2001).

Bei der Elimination des Lactoferrins aus dem Plasma spielt die Leber eine zentrale Rolle. Lactoferrin wird zur Leber transportiert und durch spezifische Rezeptoren im retikulo-endothelialen System der Leber aufgenommen, abgebaut und dann über die Galle ausgeschieden (MC ABEE und ESBENSEN, 1993).

2.3.3 Wirkungen von Lactoferrin

2.3.3.1 Allgemein

Lactoferrin spielt eine regulatorische Rolle bei vielen physiologischen Vorgängen. Neben der Eisenbindungsfähigkeit, die als wichtigste Moleküleigenschaft gilt, hat LF einige Eigenschaften die unabhängig von der Eisenbindungsfähigkeit sind. Übersichten über die verschiedenen Eigenschaften des LF (u.a. antioxidativ, antiinflammatorisch, immunmodulatorisch, antikanzerogen, antiallergen) finden sich in den Dissertationen von LAUR (2003) und SCHWARZER (2004).

2.3.3.2 Antimikrobielle Wirkung von Lactoferrin

2.3.3.2.1 Antivirale Wirkung

LF kann in vitro die Infektiosität verschiedener Viren hemmen. Dazu gehören z. B. die behüllten Viren HIV, HCMV und HSV-1 (HARMSSEN et al., 1995; MARCHETTI et al., 1996). Es ist wahrscheinlich, dass LF seine antivirale Aktivität auf der Ebene der Virus-Adsorption oder der rezeptorvermittelten Bindung an die Zielzellmembran ausübt. Heparansulfat, ein Bestandteil der Zellmembran der meisten Säugetiere, fungiert als Rezeptor für Virionen zur Anheftung an die Zielzellmembran. WU et al. (1995) konnten dieses Molekül als Bindungsstelle für humanes und bovines LF identifizieren. LF interferiert möglicherweise mit der Anhaftung von Viren an den Heparansulfatrezeptor und kann so in einem frühen Stadium der Virusinfektion intervenieren. Eine direkte Interaktion des Proteins mit dem Virus scheint jedoch auch möglich (HARMSSEN et al., 1995).

2.3.3.2.2 Antifungale Wirkung

Es ist bekannt, dass LF eine antimikrobielle Aktivität gegenüber Pilzen besitzt. Der antimykotische Mechanismus ist noch nicht verstanden, und über die Interaktion von LF mit Pilzen ist wenig bekannt. BELLAMY et al. (1993) berichten über die fungizide Aktivität von Lactoferrizin B. Zellen, die Lactoferrizin B ausgesetzt waren, zeigten profunde Schäden der Ultrastruktur. Diese resultieren aus der direkten Interaktion mit der Zelloberfläche des Pilzes. WAKABAYASHI et al. (1996) fanden heraus, dass Antimykotika mit Azol-Struktur und LF synergistisch wirken. Die Anwesenheit von LF (100µg/ml) konnte die minimale Hemmkonzentration (MIC) von Ketokonazol auf ein sechzehntel der sonst nötigen Menge senken.

2.3.3.2.3 Antibakterielle Wirkung

Die Fähigkeit, bakterielles Wachstum zu verhindern, ist eine der ersten Eigenschaften des LF die beschrieben wurden. Die antibakterielle Wirkung beruht auf verschiedenen Wirkmechanismen.

2.3.3.2.3.1 Bakteriostatische Wirkung

Durch die Fähigkeit, zwei Eisen-Ionen in Kooperation mit zwei Bicarbonationen zu binden, wird Eisen für den Bakterienstoffwechsel unzugänglich gemacht. Daraus folgt eine Wachstumshemmung der Bakterien. Zwei In-vitro-Beobachtungen stützen diese Hypothese: durch Zugabe von Eisen kann die bakteriostatische Wirkung von LF aufgehoben werden, und Fe³⁺-gesättigtes (holo-) LF wirkt auf bestimmte Bakterien nicht inhibitorisch.

BULLEN (1976) untersuchte tyrosyl-tRNA von E.coli Bakterien. Die tRNA von E. coli, die in eisenarmen Medien langsam wachsen, hat eine andere (abnorme) Form als die tRNA von E. coli unter normalen, eisenreichen Wachstumsbedingungen. Bakterien, die unter dem Einfluss von lactoferrinreichem Kolostrum gewachsen waren, zeigten einen hohen Prozentsatz solcher veränderten tRNAs. Diese abnormen tRNAs konvertierten zu normalen tRNAs durch Zugabe von Eisen.

GRIFFITHS UND HUMPHREYS (1977) machten die Beobachtung, dass unter der Zugabe von ausreichend Eisen zur Sättigung der Eisenbindungskapazität von LF die bakteriostatische Wirkung verloren ging. Die Zugabe von Citrat führte ebenfalls zur Aufhebung des bakteriostatischen Effekts von LF.

NONNECKE UND SMITH (1984) entwickelten ein In-vitro-Microassay, um die antimikrobiellen Eigenschaften des bovinen apo-LF zu untersuchen. Mit apo-LF in Konzentrationen von 0,5-30 mg/ml gelang es ihm, das Wachstum von coliformen Keimen, Streptokokken und Staphylokokken zu hemmen. Durch Zugabe von holo-LF gelang dies nicht. Keine der von ihm untersuchten apo-LF Konzentrationen wirkte auf die untersuchten Keime bakterizid. Die Zugabe von Bicarbonat verstärkte die Hemmung der coliformen Keime durch apo-LF, die Zugabe von Citrat schwächte die Hemmwirkung.

2.3.3.2.3.2 Bakterizide Wirkung

ARNOLD et al. (1977) stellten als erste eine direkte bakterizide Aktivität von apo-LF fest. Sie inkubierten gereinigtes humanes apo-LF mit Streptococcus mutans, Vibrio cholerae und Escherichia coli. Streptococcus mutans und Vibrio cholerae wurden durch LF abgetötet, nicht aber E. coli. Dieser Effekt lies sich durch Zugabe von exogenem Eisen nicht verhindern oder

aufheben. Die Tatsache, dass Bakterien derselben Spezies und sogar desselben Stammes sich in ihrer LF-Empfindlichkeit unterscheiden, deutet daraufhin, dass die Zugänglichkeit zur LF-Zielstelle für die Unterschiede in der Empfindlichkeit verantwortlich sein könnte.

In weiteren Untersuchungen 1980 und 1981 prüfte die Arbeitsgruppe von ARNOLD die Empfindlichkeit vieler verschiedener Bakterien auf den bakteriziden Effekt des Lactoferrins. Sie fanden keinen Zusammenhang zwischen der Bakterienmorphologie und der LF-Empfindlichkeit bzw. –Resistenz, stellten aber fest, dass Kulturen in der frühen Exponentialphase des Wachstums deutlich empfindlicher gegen Lactoferrin waren als Kulturen aus der frühen stationären Phase (ARNOLD et al., 1980; ARNOLD et al., 1981).

Andere Laboratorien scheiterten an dem Nachweis der direkten bakteriziden Wirkung des Lactoferrins. Es gibt Hinweise darauf, dass die bakteriziden Effekte durch das Testsystem von Arnolds Arbeitsgruppe verursacht worden sein könnten. Bis heute fehlt ein klarer Beweis für einen direkten bakteriziden Effekt des Lactoferrinmoleküls *in vitro* (NAIDU, 2000).

2.3.3.2.3.3 Adhäsionsinhibition

Die bakterielle Adhärenz an Oberflächen im Körper ist ein wichtiger Schritt in der Pathogenese vieler Erkrankungen (z. B. bei Erkrankungen des Darmes durch *E.coli*). Substanzen, die diese Wirt-Pathogen-Interaktion stören, sind von großem prophylaktischem und therapeutischem Wert.

VISCA et al. (1989) untersuchten den Einfluss von Lactoferrin, Speichelproteinen und bovinem Serumalbumin auf die Anhaftung von *Streptococcus mutans* an Hydroxylapatit. An Hydroxylapatit gebundenes apo- und holo-Lactoferrin konnte die Anhaftung von *Streptococcus mutans* um drei Größenordnungen senken. Dieser starke Inhibitionseffekt zusammen mit der bakteriostatischen Wirkung des Lactoferrins lässt die Autoren auch *in vivo* auf eine biologische Signifikanz dieses Phänomens hoffen.

ALUGUPALLI et al. (1994) fanden bei dem Bakterium *Prevotella intermedia*, einem wichtigen pathogenen Keim in Zahnfleischtaschen, in der Zelloberfläche ein lactoferrinbindendes Protein. Bovines und humanes Lactoferrin zeigten beide eine spezifische Bindung an dieses Protein. *Prevotella intermedia* bindet stark an Fibronectin, Collagen Typ I und IV und Laminin. ALUGUPALLI et al. untersuchten die Hemmwirkung von bovinem Lactoferrin auf diese Bindungen und konnten eine dosisabhängige Hemmung bei allen getesteten Proteinen feststellen. Bovines Lactoferrin konnte auch bakterielle Komplexe mit diesen Proteinen trennen. Sie schließen aus diesen Beobachtungen, dass die Fähigkeit des Lactoferrins, die Bindung von *Prevotella intermedia* an Proteine der subepithelialen Matrix zu hemmen, ein wichtiger Schutzmechanismus gegen die Ansiedelung dieses Keims in Zahnfleischtaschen

sein könnte. ALUGUPALLI und KALFAS (1997) untersuchten den Mechanismus der lactoferrinabhängigen Adhäsionshemmung verschiedener Bakterien (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*). Ihre Untersuchungen wiesen darauf hin, dass die Adhäsionshemmung an Fibroblasten und Basalmembran von der Lactoferrinbindung an beides, die Bakterien und das Substrat, abhängt. Die verminderte Adhäsion könnte durch die Blockade sowohl der spezifischen Adhäsionsliganden als auch der unspezifischen ladungsabhängigen Interaktionen verursacht werden.

2.3.3.2.3.4 Kation-Effekt: Lactoferrizin

Lactoferrin besitzt eine antimikrobielle Sequenz nahe dem N-Terminus, die durch einen anderen Mechanismus als die Eisenchelatierung antibakteriell wirkt. Dieses antimikrobielle Peptid entsteht durch die Spaltung von Lactoferrin durch Pepsin und wurde 1992 von BELLAMY et al. entdeckt.

Die Sequenz besteht aus 18 Aminosäureresten, die durch eine Disulfidbrücken-Bindung zwischen zwei Cysteinresten zu einer Schleife geformt werden. Sie enthält viele basische Reste und scheint sich auf der Oberfläche des Proteins zu befinden. Dadurch wird eine Interaktion mit Oberflächen von mikrobiellen Zellen ermöglicht. Viele andere antimikrobiell wirkende Proteine, die die Zellmembran von Bakterien angreifen, weisen eine ähnliche Struktur auf (z. B. Magainin, Cecropine, Defensine). Solche kationischen antibakteriellen Peptide besitzen eine hohe Affinität zu negativ geladenen Elementen in der Zellwand der empfänglichen Bakterien. Bei den gramnegativen Keimen sind diese Elemente die Lipopolysaccharide (LPS), bei grampositiven Keimen Lipoteichoinsäure und/oder Teichoinsäure (VORLAND et al., 1999). Sie besitzen häufig die Fähigkeit, LPS aus der Zellmembran freizusetzen und sie anschließend zu binden. Dadurch wird die Membran beschädigt, und die Membranpermeabilität verändert sich (YAMAUCHI et al., 1993). In geringerem Maße besitzt auch das intakte Glycoprotein Lactoferrin diese Fähigkeit.

Die isolierte Domäne wird als Lactoferrizin bezeichnet. Lactoferrizin besitzt ein breites antibakterielles Spektrum gegen viele der grampositiven und gramnegativen Keime die bei Mensch und Tier vorkommen.

Durch Beeinflussung der Zytoplasmamembran wirkt Lactoferrizin bakterizid. Welche Mechanismen an der Zellmembran genau ablaufen, ist noch unbekannt. Ein rezeptorvermittelter erster Schritt bei der Interaktion mit der Zellmembran ist nicht auszuschließen (VORLAND et al., 1999).

Bovines Lactoferrizin ist antibakteriell 12-mal wirksamer als das ungespaltene bovine Lactoferrin und 9-mal stärker als humanes Lactoferrizin. Die Effektivität des Hydrolysates hängt aber auch von der Art der enzymatischen Spaltung ab: Spaltungen durch Pepsin bei niedrigem pH-Wert ergaben deutlich effektivere Hydrolysate als die Spaltung durch neutrale Protease bei pH 7. (TOMITA et al., 1991; TOMITA et al., 1994). Anders als das native Protein behält Lactoferrizin seine antibakterielle Aktivität auch in Gegenwart von Eisen. Die Eisenbindungskapazität und die Antigenität gehen durch die Hydrolyse jedoch verloren (SAITO et al., 1991).

TOMITA et al. (1994) konnten beweisen, dass aktive Peptide aus Lactoferrin durch Pepsinverdauung im Magen auch in vivo entstehen können. Sie untersuchten den Mageninhalt von Ratten, die mit Lactoferrin gefüttert worden waren, und fanden ein Peptid, das in seiner Struktur identisch mit Lactoferrizin B war.

2.3.3.2.3.5 Synergistische Effekte des Lactoferrins

Verschiedene synergistische Effekte des Lactoferrins mit anderen antibakteriell wirkenden Substanzen sind beschrieben worden. BULLEN (1981) berichtete über die Bedeutung des LF für die Funktion der polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten (PMN) und sein Zusammenspiel mit Antikörpern, das zu einem starken bakteriostatischen Effekt führt.

Die Wirksamkeit von Medikamenten, die von der intakten Bakterienzellwand ausgeschlossen werden, konnte durch Lactoferrin deutlich verbessert werden. ELLISON et al. (1988) untersuchten subinhibitorische Konzentrationen von Rifampin auf ihre antibakterielle Wirkung mit und ohne Zusatz von Lactoferrin. Der LF-Zusatz verstärkte den Effekt des Rifampins deutlich. NAIDU UND ARNOLD (1994) testeten die Wirksamkeit mehrerer Antibiotika gegen *Salmonella typhimurium*, Stamm ATCC13311, und den Effekt einer LF-Zugabe. Die Wirkung von Erythromycin konnte durch Zugabe von LF bis um das achtfache gesteigert werden, die Wirkung von Ampicillin, Ciprofloxacin und Chloramphenicol konnte um das zweifache gesteigert werden. Ähnliche Ergebnisse erhielten auch CHIMURA et al. (1993), die ein Cephalosporin auf seine synergistische Wirkung mit LF untersuchten. In einigen Fällen konnte LF die MIC von Cefpodoxime proxetil auf weniger als 1/64tel senken.

Die Ursachen für diese Synergie-Effekte scheinen in der Beschädigung der Bakterienzellwand durch LF zu liegen. LF bindet LPS aus der äußeren Membran der gramnegativen Bakterien und entzieht sie ihr. Der Ersatz der LPS-Moleküle erfolgt durch neutrale Phospholipide aus der inneren Membran. Dadurch kann zwar die Integrität der Zelle erhalten werden, aber die Permeabilitätseigenschaften der Membran ändern sich. Durch die erhöhte Permeabilität der Zellmembran können hydrophobe Stoffe, die vorher aus der Zelle ausgeschlossen wurden,

eindringen und wirksam werden, z. B. verschiedene Antibiotika oder Lysozym. In hypo- oder hyperosmolarem Milieu kommt es bei erhöhter Durchlässigkeit der Membran auch zur osmotischen Schädigung der Bakterienzelle (ELLISON et al., 1988; ELLISON und GIEHL, 1991).

2.3.3.2.3.6 Oponisierung und Complementaktivierung durch Lactoferrin

LF besitzt die Fähigkeit, die Phagozytoseaktivität und Zytotoxizität von Makrophagen zu stimulieren. RAINARD (1993) fand in seinen Untersuchungen an *Streptococcus agalactiae* heraus, dass die Interaktion von LF mit dem Bakterium in Abwesenheit von Antikörpern zur Aktivierung des klassischen Pfades der Complementaktivierung führt. Die Bindung von LF an *Streptococcus agalactiae* opsoniert diesen vergleichbar mit Antikörpern. Diese Ergebnisse lassen die Schlussfolgerung zu, dass LF in der Lage ist, Antikörper in der Oponisierung bestimmter Bakterien und der Complementaktivierung zu ersetzen.

2.3.4 Einsatz von Lactoferrin

Kommerzieller Einsatz von LF:

1986 wurde LF in Säuglingsnahrung erstmals kommerziell eingesetzt. Heute wird LF auf industrieller Basis aus Kuhmilch isoliert, gereinigt und in verschiedenen Bereichen eingesetzt (Tabelle 1). In verschiedenen Versuchen konnten gezeigt werden, dass eine Pasteurisation bei niedrigem pH-Wert der LF-Wirkung keinen Abbruch tut (TOMITA et al., 2002).

Tabelle 1: Kommerzieller Einsatz von LF nach STEIJNS UND VAN HOOLJDONK (2000)

Einsatzbereich	Funktion
Säuglingsnahrung	Imitation von Muttermilch, Verbesserung der Resistenz gegen Pathogene
Nahrungsergänzungspräparate	Verbesserung der Eisenabsorption, Immunstimulation
„Functional food“	Verbesserung der Eisenlöslichkeit und Absorption
Kosmetika	Antioxidans
Zahnhygieneprodukte, Kaugummis	Verbesserung der Mundhygiene
Futterergänzungstoff	Antiviral, Immunstimulierend

Weitere untersuchte Einsatzgebiete in der Humanmedizin sind die Behandlung von Pilzinfektionen (*Tinea pedis*) und chronischer Hepatitis C. Bei NAIDU (2000) findet sich eine Auflistung der bisher durchgeführten klinischen Versuche mit LF.

In der Tiermedizin wurde LF 1996 zur Behandlung von schlecht beherrschbaren Stomatitiden bei FIV-infizierten Katzen mit Erfolg eingesetzt. Vermutlich hängt dieser Erfolg mit einer Regulation der Funktion der neutrophilen Granulozyten zusammen (SATO et al., 1996; SATO et al., 2002). LAUR (2003) untersuchte den Einfluss von LF auf den Organismus neonataler Hundewelpen am Modell der mutterlosen Aufzucht. Dabei konnten Veränderungen des weißen Blutbildes, eine Reduktion des Kot-Ammoniakgehaltes und eine Veränderung der Darmflora mit Anstieg der Lactatkonzentration im Kot beobachtet werden.

Anwendung von LF in der Mundhygiene:

Trotz der vielen Beweise der In-vitro-Wirksamkeit gibt es kaum klinische Studien über den Einsatz von LF in der Mundhygiene. TENOVUO et al. (1991) halten die Idee, natürliche, antibakteriell wirkende Substanzen wie LF und Lysozym (statt oder in Kombination mit Antibiotika) in der Mundhöhle einzusetzen aber für viel versprechend. Ein Beispiel für einen erfolgreichen Einsatz von LF ist die Studie von KIRSTILÄ et al. (1996), die die erfolgreiche Anwendung bei Xerostomie-Patienten beschreibt.

Mögliche Gefahren beim Einsatz exogenen Lactoferrins:

LF als Proteinstruktur kann zur Antikörperbildung führen, Lactoferrizin dagegen hat seine Antigenität verloren. Anti-Lactoferrin-IgG kann LF-gebundenes Eisen reaktivieren und so für Bakterienwachstum verfügbar machen (WEINBERG, 2001).

Eine andere mögliche Gefahrenquelle ist der spezifische probakterielle Effekt von LF:

Bestimmte pathogene Bakterien haben die Fähigkeit, eisenbindende Proteine wie LF oder Transferrin als Eisenquelle zu nutzen. Diese Fähigkeit ist essentiell für die Bakterien, um in eisenfreier Umwelt überleben zu können. Manche dieser Bakterien können Siderophoren (Eisenchelatoren mit extrem hoher Eisenaffinität) bilden, andere, wie zum Beispiel *Neisseriaceae*, haben in der äußeren Zellmembran Rezeptoren, die LF-Komplexe mit Eisen erkennen, binden und durch Endocytose aufnehmen (GRAY-OWEN und SCHRYVERS, 1996). Zu den Mikroorganismen, die Eisen aus LF für sich nutzen können, gehören verschiedene Mitglieder der Familie der *Neisseriaceae*, *Helicobacter pylori*, sowie die Protozoen *Trichomonas vaginalis* und *Tritrichomonas foetus*. Der Einsatz von LF bei solchen Infektionen begünstigt die Erreger (CHIERICI, 2001; WEINBERG, 2001).

Toxizität von Lactoferrin:

Gereinigtes LF wird als sehr sicherer Lebensmittelzusatzstoff beurteilt. Toxizitätstests an Ratten ergaben selbst in hoher Dosierung keine schädlichen Wirkungen. Anhand des Ames - Mutagenitätstest konnte in keiner der getesteten Konzentrationen ein mutagenes Potential nachgewiesen werden (YAMAUCHI et al., 2000 a; YAMAUCHI et al., 2000 b). Auch in den klinischen Tests, die mit LF in der Tier- und Humanmedizin durchgeführt wurden, konnten keine durch LF bedingten Schäden festgestellt werden. Selbst die intraperitoneale Applikation von LF schadete Ratten nicht (NAIDU, 2000).

2.4 (-)-Epigallocatechingallat

2.4.1 Pflanzlicher Ursprung Grüner Tee

Die bekannteste Quelle des (-)-Epigallocatechingallates (EGCG) ist der Grüne Tee.

Grüner Tee wird aus den Blättern des Teestrauches *Camellia sinensis* gewonnen. *Camellia sinensis* gehört zu der Familie der Theaceae und wächst als immergrüner, reich verzweigter Strauch. Man unterscheidet zwei Varietäten: *C. sinensis* var *sinensis* und *C. sinensis* var *assamica*, die sich vor allem durch ihre Blattgröße unterscheiden. Meistens werden heute deren Hybriden angepflanzt. Die Heimat des Teestrauches ist Südostasien, heute wird er jedoch in über 30 Ländern der Welt angebaut. Die größten Teeproduzenten sind Indien, China und Sri Lanka. Aus den Blättern des Teestrauches werden durch unterschiedliche Aufbereitung Grüner, Schwarzer und Oolong Tee hergestellt. Zur Herstellung des Grünen Tees werden die frischen Blätter für einige Minuten mit Wasserdampf oder in flachen Pfannen erhitzt, um die blatteigenen Enzyme zu inaktivieren. Vor allem das Enzym Polyphenoloxidase soll dadurch inaktiviert werden. Danach werden die Teeblätter gerollt und getrocknet.

Grüner Tee enthält die unveränderten Polyphenole wie sie im Blatt vorkommen. 25-35 % der Trockenmasse des grünen Tees bestehen aus Polyphenolen, von diesen nimmt das EGCG den größten Anteil (ca. 7-13 % der Trockenmasse) ein (GRAHAM, 1992; WANG et al., 2000).

Die Verwendung von Tee als Heilmittel hat eine lange Tradition; so ist bekannt, dass Tee in China schon seit mindestens 4700 Jahren wegen seinen medizinischen Eigenschaften getrunken wird (WEISBURGER, 1997).

2.4.2 Chemie und Biochemie

Das als hauptsächliche bioaktive Komponente in den Teeblättern enthaltene EGCG gehört zu den Flavonoiden. Alle Flavonoide basieren auf der 2-Phenyl-benzopyran-Struktur (Abbildung 2).

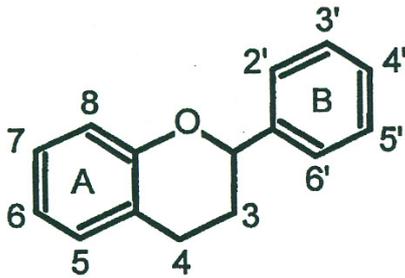


Abbildung 2: Grundstruktur der Flavonoide

Die Flavonoide werden in sechs Klassen eingeteilt: Flavone, Flavanone, Isoflavone, Flavonole, Flavanole und Anthocyanine. Im Tee findet man hauptsächlich Flavanole und Flavonole. Die Catechine, zu denen auch EGCG zählt, gehören zu den Flavanolen (Flavan-3-ole). Diese sind charakterisiert durch die Substituenten am A- bzw. B-Ring.

Catechine haben am A-Ring zwei Hydroxylgruppen in meta- 5,7-Konfiguration und zwei oder drei Hydroxylgruppen am B-Ring. Substanzen mit drei Hydroxylgruppen am B-Ring werden als -gallocatechine bezeichnet (BALENTINE et al., 1997). Wenn die Hydroxylgruppe am C3 des Pyran-Rings mit Gallussäure verestert ist, spricht man von -gallaten (GRAHAM, 1992).

Durch Epimerisation sind zwei Konfigurationen der Moleküle möglich, der Großteil der Catechine im Tee liegt aber in der epi-Form vor. Die Catechine sind Enantiomere, deshalb wird vor dem Stoffnamen die Drehrichtung des polarisierten Lichtes durch (+) oder (-) angegeben. EGCG kommt nur in der (-) Form vor (WANG et al., 2000).

EGCG besitzt drei Hydroxylgruppen am C 3', C 4' und C 5' des B-Rings und ein am C 3 des Pyran-Rings verestertes Gallat (Abbildung 3).

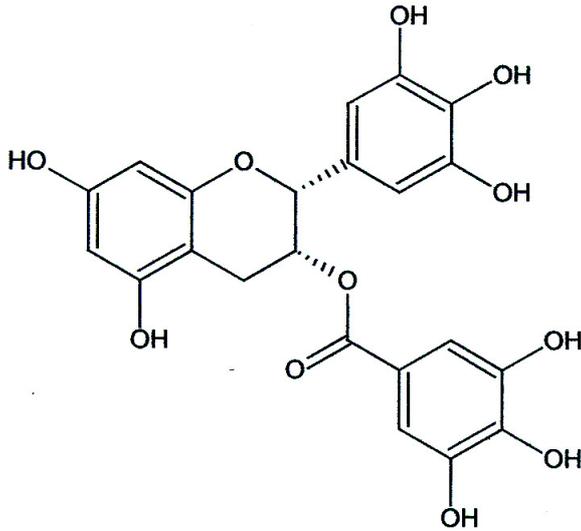


Abbildung 3: Strukturformel von (-)-Epigallocatechingallat

Catechine sind farblose, wasserlösliche, adstringierende Substanzen mit großem Oxidationspotential und bitterem Geschmack.

2.4.3 Pharmakokinetik und Toxikologie

2.4.3.1 Absorption und Verteilung im Organismus

Die Absorption und die Verteilung der Tee-Catechine im Organismus sind noch nicht vollständig untersucht und scheinen auch speziesspezifisch stark zu variieren (HIGDON und FREI, 2003). In Versuchen an Ratten konnte gezeigt werden, dass EGCG intestinal absorbierbar ist. Welcher Anteil des verabreichten EGCG absorbiert wird, variiert speziesspezifisch deutlich; die Bioverfügbarkeit von EGCG ist aber generell niedrig. Die einmalige Dosis von 800 mg EGCG per os führte bei Testpersonen zu einer maximalen Plasmakonzentration (C_{\max}) von $0,96 \mu\text{mol} / \text{l}$. Diese wurde 1,4 - 2,4 Stunden nach Aufnahme des Catechins erreicht. Bei Erhöhung der verabreichten EGCG Dosis, erhöhten sich die C_{\max} - Werte ebenfalls, allerdings nur bis zu einer gewissen Grenze. Eine Erhöhung auf $> 4,5 \text{ g}$ konnte die C_{\max} - Werte nicht mehr deutlich erhöhen. Dies weist auf ein Sättigungsphänomen bei der Absorption hin (YANG et al., 1998). Eine dem entgegengesetzte Beobachtung machten CHOW et al. (2001): Sie fanden heraus, dass sich die systemische Verfügbarkeit von EGCG bei hohen Dosen (800 mg) überproportional steigerte. Dieses Phänomen wird häufig bei Substanzen beobachtet, die schon präsystemisch vom Körper eliminiert werden. Sind die Eliminationsmechanismen bei höheren Dosen gesättigt, wird eine größere Menge der

Substanz in der Blutzirkulation gefunden. CHOW et al. vermuten diesen Mechanismus auch für EGCG.

Die Eliminationshalbwertszeit ($t_{1/2}$) von EGCG liegt nach einer Studie von LEE et al. (2002) bei ca. 3,4 Stunden, zwischen wiederholten Experimenten mussten jedoch deutliche interindividuelle Differenzen und Variationen festgestellt werden. Im Körper findet man EGCG nach oraler Applikation in den höchsten Konzentrationen im Ösophagus und im Darm (direkter Kontakt mit dem verabreichten EGCG). In anderen Organen ist die EGCG Konzentration aufgrund der schlechten systemischen Absorption niedrig (YANG et al., 1999 a).

Untersuchungen über die Applikationsform des EGCG vergleichen die Verabreichung von EGCG in Grünem Tee mit der von isoliertem EGCG. Isoliertes EGCG hat eine kürzere Eliminationshalbwertszeit, eine höhere Clearance und ein größeres Verteilungsvolumen. Diese Untersuchungen weisen darauf hin, dass die anderen Komponenten im Grünen Tee die Plasmakonzentration und -elimination beeinflussen können (CHEN et al., 1997).

Speichelspiegel von (-)-Epigallocatechingallat

YANG et al. (1999 b) untersuchten den Speichelspiegel der Catechine nach Aufnahme von Grünem Tee beim Menschen. Die Maximal-Konzentrationen von EGCG im Speichel konnten schon nach wenigen Minuten gemessen werden. Diese Konzentration war um zwei Größenordnungen höher als die maximale Konzentration im Plasma nach Verabreichung derselben Menge. Die Eliminationshalbwertszeit der Catechine im Speichel war mit 10-20 Minuten deutlich kürzer als im Plasma. Die Untersuchung konnte zeigen, dass eine längere Verweildauer des Tees in der Mundhöhle zu einem erhöhten EGCG Speichelspiegel führt. Da bei der Verabreichung von EGCG in Kapseln keine Catechine im Speichel gefunden werden konnten, handelt es sich bei den Catechinen im Speichel nicht um systemisch absorbierte Catechine. Eine mögliche Erklärung ist, dass die Catechine oral absorbiert werden und dann von den Speicheldrüsen in die Mundhöhle sezerniert werden. Alternativ könnten die Catechine an die Oberfläche der Mundschleimhaut gebunden und im Speichel wieder gelöst werden.

2.4.3.2 Metabolisierung und Elimination

Catechine werden im Körper schnell und umfassend metabolisiert. Über Phase-I-Biotransformationsreaktionen von EGCG ist nur wenig bekannt. Die Phase-II-Biotransformationsreaktionen sind besser untersucht und bei verschiedenen Spezies beschrieben. Häufige Reaktionen sind Glucuronidierung, Sulfatierung und O-Methylierung. Nach oraler EGCG-Applikation werden hauptsächlich Sulfate gefunden, ein Teil (in der Regel etwa 20%) des

(-)-Epigallocatechingallates bleibt jedoch unkonjugiert. Die Konjugationskapazitäten können gesättigt werden, dann steigt die Konzentration des unkonjugierten EGCGs im Plasma an.

Die Ausscheidung des EGCG geschieht hauptsächlich über die Galle. Im Darm werden die Konjugate direkt über die Faeces ausgeschieden oder durch Darmbakterien in einfachere Moleküle zerlegt und reabsorbiert. Es kann ein enterohepatischer Kreislauf entstehen bzw. zu einer Ausscheidung der wasserlöslichen Metaboliten über den Urin kommen (HOLLMAN et al., 1997).

Über die Bioverfügbarkeit von EGCG bei Katzen liegen keine Studien vor. Es gibt jedoch eine Untersuchung über die Absorption, Gewebsverteilung und Elimination bei Hunden. Diese dürfte am ehesten für einen Analogieschluss zu Katzen geeignet sein, da die Katze, trotz ihrer speziesspezifischen Eigenarten, ein weitgehend ähnliches Verdauungssystem wie der Hund besitzt. Bei oraler Applikation von EGCG konnten beim Hund schon nach einer Stunde maximale Plasmakonzentrationen festgestellt werden. Von der oral verabreichten Dosis wurden jedoch nur 20% absorbiert. Die Elimination erfolgte mit einer Halbwertszeit von 8,61 Stunden und die Ausscheidung erfolgt auch beim Hund vorwiegend über die Faeces. Bei einer Langzeitadministration von EGCG über 27 Tage wurde EGCG in verschiedenen epithelialen Geweben gefunden, die höchsten Konzentrationen konnten in der Leber und im Gastrointestinaltrakt gemessen werden (SWEZEY et al., 2003).

2.4.3.3 Toxizität

Die Toxizität von EGCG ist gering. Die letale Dosis von Polyphenolen aus Grünem Tee beträgt ca. 3g / kg für weibliche Mäuse, bzw. mehr als 5 g / kg für männliche Mäuse. Bei Untersuchungen an Ratten führten tägliche Dosen von 75 mg / kg über 3 Monate zu keinen toxischen Symptomen (FRAUEN, 2001).

ULLMANN et al. (2003) schließen aus Untersuchungen an gesunden männlichen Testpersonen, dass einmalige orale Dosen von bis zu 1600 mg sicher und gut verträglich sind.

CHOW et al. (2003) führten eine vierwöchige klinische Studie zur Sicherheit einer täglichen oralen Administration von bis zu 800 mg EGCG mit gesunden Testpersonen durch. Sie kommen zu dem Schluss, dass diese Menge für gesunde Menschen unbedenklich ist. Patienten die eine Dauermedikation mit Antikoagulantien erhalten, sollten jedoch die ebenfalls antikoagulatorische Wirkung des EGCG beachten.

Spezielle Studien zur Toxizität von EGCG für Katzen gibt es nicht. Auf die Besonderheiten des Phenolstoffwechsels der Katze wird in der Diskussion eingegangen (siehe Abschnitt 5.1.).

2.4.4 Wirkungen von (-)-Epigallocatechingallat

2.4.4.1 Allgemein

Tabelle 2: Überblick über die Wirkungen von (-)-Epigallocatechingallat

Wirkung	Mechanismus	Quelle
• Antithrombotischer Effekt	Hemmung der Plättchenaggregation	(KANG et al., 1999)
• Vasorelaxierender Effekt	Hemmung der Gefäßkontraktion durch Hemmung des Ca ²⁺ Einstroms	(HUANG et al., 1998)
• Hemmung der Cholesteroxidation von LDL	Interferenz mit PUFA Oxidation , Reduktion und Bindung von Kupfer-Ionen, Hydroxylradikalen und Superoxidanionen	(OSADA et al., 2001)
• Senkung der Cholesterolabsorption	Interferenz mit der micellären Löslichkeit von Cholesterol im Verdauungstrakt	(RAEDERSTORFF et al., 2003)
• Anticancerogener Effekt	Angiogeneseinhibition	(CAO et al., 2002)
	Apoptoseinduktion und Anhalten des Zellzyklus in G0-G1 Phase	(AHMAD et al., 1997)
	Hemmung der TNF- α Expression und Freisetzung	(FUJIKI et al., 1999)
	Antimutagene Wirkung	(HAYATSU et al., 1992)
• Antiallergener Effekt	Hemmung der Histidindecaboxylase	(RODRIGUEZ-CASO et al., 2003)
	Hemmung der Histaminfreisetzung aus Mastzellen	(OHMORI et al., 1995)
• Antioxidativer Effekt	„Radikalfänger“	(WISEMAN et al., 1997)
• Antidiabetogener Effekt	Blutzuckersenkung Verminderte Glucoseresorption	(DUFRESNE und FARNWORTH, 2001)
• Antimikrobieller Effekt	Antiviral, Antifungal, Antibakteriell	Siehe 2.4.4.2.3

In den folgenden Abschnitten werden nur die antimikrobiellen Eigenschaften des (-)-Epigallocatechingallates besprochen. Für Informationen zu weiteren Eigenschaften wird auf die in Tabelle 2 erwähnte Literatur verwiesen.

2.4.4.2 Antimikrobielle Wirkung von (-)-Epigallocatechingallat

2.4.4.2.1 Antivirale Wirkung

Die antivirale Wirkung von EGCG ist besonders an Influenza- und humanen Immundefizienz (HI) -Viren untersucht worden. NAKAYAMA et al. (1993) untersuchten die Wirkung von EGCG auf Influenza-A- und -B-Viren in vitro und konnten eine Hemmung der Infektiosität beider Viren durch EGCG feststellen. EGCG agglutinierte die Influenza-Viren ähnlich wie ein Antikörper und verhinderte die Adsorption des Virus an die Zellen. Des Weiteren konnte EGCG die Hämagglutination durch Bindung des viralen Hämagglutinins verhindern.

In Versuchen mit HI-Viren unterdrückte EGCG effektiv die Replikation verschiedener Virusstämme. YAMAGUCHI et al. (2002) untersuchten die Auswirkungen von EGCG auf den Lebenszyklus des HIV-1. Sie stellten einen destruktiven Effekt des EGCG auf die Viruspartikel, eine Hemmung des post-adsorptiven Eindringens des Virus in Zellen und eine Hemmung der Reversen Transkriptase (RT) fest. Die Virusproduktion in chronisch infizierten Zellen konnte dosisabhängig gehemmt werden. Diese Untersuchung zeigt, dass EGCG an verschiedenen Stellen hemmend in den viralen Zell-Zyklus eingreift.

Weitere Untersuchungen der antiviralen Eigenschaften des EGCG wurden an Adenoviren, am Herpes-Simplex-Virus und am Epstein-Barr-Virus unternommen.

2.4.4.2.2 Antifungale Wirkung

Die antifungale Wirkung von EGCG gegen *Candida albicans* wurde von HIRASAWA und TAKADA (2004) untersucht. Sie konnten eine pH-Wert abhängige Wachstumshemmung von *Candida albicans* feststellen. Bei einem pH-Wert von 7,0 waren geringere Konzentrationen ausreichend, um das Wachstum zu hemmen, als bei pH-Wert 6,5. EGCG konnte zudem den antifungalen Effekt von Amphotericin B und Fluconazol gegen empfindliche und resistente Stämme von *Candida albicans* verstärken. Die Kombination von EGCG mit Antimykotika erlaubte eine niedrigere Dosierung der Antimykotika und führte durch die Dosisreduktion zu einer Verminderung der Nebenwirkungen.

Ältere Untersuchungen von OKUBO et al. (1991) konnten keine antifungalen Effekte von EGCG gegen *Candida albicans* und *Trichophyton mentagrophytes* bzw. *rubrum* feststellen.

2.4.4.2.3 Antibakterielle Wirkung

Die antibakterielle Aktivität von Grünem Tee ist schon seit langem bekannt. TODA et al. (1989) untersuchten Grünen Tee auf seine antibakterielle Wirkung gegenüber darmpathogenen Keimen und konnten vor allem bei grampositiven Bakterien eine deutliche Wachstums-

hemmung erzielen. Gegenüber einigen der getesteten Bakterien war auch eine bakterizide Wirkung feststellbar. Bei der Untersuchung verschiedener Teepolyphenole auf die Wachstumshemmung von *Streptokokkus mutans* fanden SAKANAKA et al. (1989) heraus, dass die Gallocatechine in ihrer Hemmwirkung deutlich aktiver waren als die Catechine. Das deutet darauf hin, dass die Anwesenheit der drei Hydroxylgruppen am C 3', C 4' und C 5' des B-Rings am Catechin- und Epicatechin-Molekül für die antibakterielle Wirkung von Bedeutung ist.

2.4.4.2.3.1 Membranveränderung

IKIGAI et al. (1993) untersuchten Liposomen als Modell für die Bakterienmembran. Sie konnten feststellen, dass EGCG die Liposomenmembran beschädigt und zu einem Austritt des Inhaltes führt. Dieser Effekt wurde signifikant verringert, wenn die Liposomenmembranen negativ geladene Lipide wie Phosphatidylserin und Dicetylphosphat enthielten. Das führt zu der Annahme, dass die geringere Catechin-Empfindlichkeit der gramnegativen Bakterien auf die Gegenwart der stark negativen Ladung der Lipopolysaccharide (LPS) in der äußeren Membran zurückzuführen ist. Es ist jedoch ungeklärt, wie das ungeladene EGCG-Molekül mit den negativ geladenen LPS interagiert.

TSUCHIYA untersuchte 1999 und 2001 den Effekt von EGCG auf die Membranfluidität von phospholipid- und cholesterolhaltigen liposomalen Membranen. Alle getesteten Catechine reduzierten signifikant die Membranfluidität sowohl in hydrophoben als auch in hydrophilen Regionen der Lipiddoppelschicht. Catechingallatester wie EGCG waren den nicht veresterten Catechinen in ihrer Wirkung auf die Membranen überlegen und wirkten schon in niedrigeren Konzentrationen (5-100 µM) membranfluiditätssenkend. CATURLA et al. (2003) untersuchten ebenfalls den Effekt von EGCG und anderen Catechinen auf die physikalischen Eigenschaften eines Phospholipidmembran-Modells und die Korrelation mit ihren antibakteriellen Eigenschaften. Galloylierte Catechine veränderten die physikalischen Eigenschaften von Phosphatidylcholin- und Phosphatidylethanolamin-Doppelschichten deutlich. Sie lagerten sich zwischen die Hydrocarbonketten und tauchten tief in die Phospholipid-Palisaden ein. Die Veränderung des Phosphatidylethanolamins war für die Membranschädigung an den Modell-Membranen essentiell, so dass vermutet wird, dass der bakterizide Effekt des EGCG auf der Membranebene von der Schädigung von Phosphatidylethanolamin abhängt.

2.4.4.2.3.2 Antihämolyseeffekt

TODA et al. (1990) berichten über die Antihämolyse-Wirkung der Tee-Catechine. Sie konnten feststellen, dass EGCG gegen verschiedene Bakterien-Hämolyse wirksam ist.

Die stärkste Anti-Hämolyse-Wirkung konnten sie gegen *Staphylokokkus aureus* alpha-Toxin, gegen das direkte thermostabile Hämolyse (TDH) von *Vibrio parahaemolyticus* und gegen das *Vibrio cholera*-Hämolyse feststellen. Dieser Antihämolyse-Effekt scheint mit der Konformation der Catechine zusammenzuhängen.

2.4.4.2.3.3 Synergieeffekt

Methicillin-resistente *Staphylokokkus aureus*-Spezies sind in den letzten zwei Jahrzehnten zu den problematischsten nosokomialen Keimen geworden. Die therapeutischen Möglichkeiten sind durch multiple Antibiotika - Resistenzen stark eingeschränkt, so dass nach alternativen Therapeutika gesucht wird. KONO et al. (1994) berichten über die antibakterielle Aktivität von EGCG gegenüber Methicillin-resistenten *Staphylokokkus aureus* (MRSA). Die minimale Hemmkonzentration (MIC) lag bei unter 100 µg/ml. EGCG wirkte in niedriger Dosis bakteriostatisch, in hoher Dosis bakterizid gegen die MRSA. ZHAO et al. (2001) stellten fest, dass schon weniger als 25 µg/ml EGCG ausreichten, um die Resistenzen der MRSA gegenüber sämtlichen getesteten β-Lactam-Antibiotika unwirksam zu machen. Dieser Synergismus beruht zum einen auf der direkten Bindung des EGCG an die Peptidoglykane der Bakterienzellwand. EGCG schädigt dadurch die Membranintegrität. Es interferiert direkt mit der Zellwandsynthese und verhindert so die Vermehrung des Bakteriums. Des Weiteren kann EGCG direkt β-Lactamasen, die von den resistenten Bakterien produziert werden, hemmen und dadurch die β-Lactame vor der Spaltung des β-Lactam-Rings schützen. Die unterschiedliche Wirksamkeit von EGCG im Zusammenspiel mit β-Lactamen hängt mit der Lokalisation der zellgebundenen bzw. extrazellulären β-Lactamasen der Bakterien zusammen (ZHAO et al., 2003).

2.4.4.2.3.4 Adhäsionsinhibition

Die Adhäsion von Bakterien an Gewebszellen ist der erste Schritt bei bakteriellen Infektionen. Erst die adhärenierten Bakterien wachsen, vermehren sich und beginnen mit der Produktion von Virulenzfaktoren. Die Adhäsion zu verhindern ist demnach ein wichtiger Faktor in der Prävention bakterieller Erkrankungen. EGCG kann die Adhäsion verschiedener Bakterien hemmen. SAKANAKA et al. (1996) untersuchten den Effekt von EGCG auf die Anhaftung des pathogenen Mundhöhlen-Keimes *Porphyromonas (P.) gingivalis*. In

Konzentrationen von 250-500 µg/ml konnte EGCG das Wachstum und die Adhäsion von *P. gingivalis* an buccale Epithelzellen vollständig hemmen. Die Adhäsion dieses Bakteriums ist fimbrienvermittelt, und die Ergebnisse der Untersuchung deuten darauf hin, dass die Adhäsionshemmung auf einer Bindung der Polyphenole an die Fimbrien beruht. Da Polyphenole ohne veresterten Galloyl-Rest deutlich weniger adhäsionshemmend waren als solche mit einem Galloyl-Rest, ist anzunehmen, dass der Galloyl-Rest für die Adhäsionsinhibition von Bedeutung ist. Die Konzentration von EGCG, die für die Adhäsionshemmung nötig ist, liegt deutlich unter der MIC.

OTAKE et al. (1991) untersuchten die Adhäsionsinhibition durch Grüntee polyphenole an dem Karies verursachenden Bakterium *Streptokokkus mutans*. Die Vorbehandlung der Bakterien mit einem EGCG-haltigen Präparat konnte ihre Adhäsion an speichelbedeckte Hydroxyapatitscheiben signifikant hemmen. Diese Hemmung war dosisabhängig. Die Vorbehandlung der Hydroxyapatitscheiben mit EGCG führte ebenfalls zur Adhäsionsinhibition, jedoch erst bei höheren EGCG-Dosierungen.

Die Adhäsion von *Streptokokkus mutans* an glatte Oberflächen wird durch die physikalischen Eigenschaften von Glucanen vermittelt. EGCG kann diese Adhäsion vollständig verhindern, indem es die Produktion von Glucanen hemmt (SAKANAKA et al., 1990).

2.4.4.2.3.5 Hemmung bakterieller Enzyme

Hemmung der Glucosyltransferase von *Streptokokkus mutans*

Streptokokkus mutans produziert aus Sucrose zwei verschiedene Glucane: ein wasserlösliches und ein wasserunlösliches. Diese Glucane werden von verschiedenen Enzymen, den Glucosyltransferasen (GTF) synthetisiert. Das hochverzweigte, wasserunlösliche Glucan ist ein Hauptbestandteil des Plaquebiofilms und verantwortlich für die Adhäsion von *Streptokokkus mutans* an Zahnoberflächen.

SAKANAKA et al. (1990) berichten über die antibakterielle Wirkung von Grüntee - Extrakten auf *Streptokokkus mutans*. EGCG hemmt die GTF des Bakteriums und dadurch die Glucansynthese und verhindert so effektiv die Anhaftung von *Streptokokkus mutans* an Zahnoberflächen. Die Hemmung der Glucansynthese ist beinahe proportional zur EGCG Konzentration und ist unabhängig von der Sucrose - Konzentration. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass EGCG an die GTF bindet und sie irreversibel hemmt. Die Konzentrationen von EGCG, die zur Hemmung der GTF nötig sind, sind deutlich niedriger als die MIC.

HATTORI et al. (1990) untersuchten den Effekt von EGCG auf die Bildung von wasserlöslichem, wasserunlöslichem und Gesamtglucan und stellten fest, dass vor allem das wasserunlösliche Glucan durch EGCG vermindert wird. Bei der Untersuchung verschiedenener

Teepolyphenole auf ihre Fähigkeit zur GTF-Hemmung waren die Polyphenole mit Galloyl-Gruppe am Pyran-Ring den Polyphenolen ohne verestertes Gallat überlegen. Der Zusammenhang zwischen der inhibitorischen Potenz und der Galloyl-Gruppe ist jedoch noch nicht vollständig geklärt und scheint komplex zu sein.

Bei ihren Versuchen stellten sie des Weiteren fest, dass durch Zugabe eines Protein-Polyphenol-Komplexes keine inhibitorische Wirkung auf die GTF feststellbar war. Zur Hemmung der GTF ist nicht-proteingebundenes EGCG notwendig. Da EGCG mit Proteinen Komplexe bildet, muss zur effektiven Inhibition der GTF in Anwesenheit von Proteinen ein EGCG- Überschuss vorhanden sein.

Hemmung der Protein-Tyrosin-Phosphatase von *Prevotella intermedia*

Prevotella intermedia ist ein gramnegativer anaerober Keim, der mit verschiedenen schweren Parodontopathien beim Menschen in Verbindung gebracht wird. *Prevotella intermedia* besitzt eine saure Phosphatase mit Phosphotyrosyl Phosphatase (PTPase) Aktivität. Dieses Enzym spaltet tyrosin-phosphat-haltige Proteine und ist ein wichtiger Virulenzfaktor von *Prevotella intermedia*. OKAMOTO et al. (2003) untersuchten die Auswirkungen von EGCG auf die PTPase Aktivität von *Prevotella intermedia* und konnten eine effektive Inhibition der PTPase schon bei Konzentrationen von 0,5 µmol feststellen. Die PTPasen verwandter Spezies wurden ebenfalls durch EGCG gehemmt, dazu waren jedoch höhere Konzentrationen notwendig. Die Autoren vermuten, dass für den inhibitorischen Effekt des EGCG die Anwesenheit der Galloyl-Gruppe am Pyran-Ring verantwortlich ist.

Hemmung von Collagenasen

Collagenasen von pathogenen Maulhöhlenbakterien aber auch vom Wirtsorganismus selbst spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung periodontaler Erkrankungen, da sie in die Zerstörung von gingivalem Bindegewebe involviert sind.

MAKIMURA et al. (1993) untersuchten EGCG und andere Tee - Catechine auf ihre Fähigkeit, Collagenasen prokaryotischer und eukaryotischer Herkunft zu hemmen. EGCG zeigte von allen getesteten Catechinen die potenteste Inhibition der Collagenaseaktivität, Catechine ohne Galloyl-Gruppe am Pyran-Ring zeigten keinen inhibitorischen Effekt. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die räumliche Struktur der Galloyl-Gruppe wichtig für die Inhibition der Collagenase ist (sterische Hinderung). In weiteren Versuchen wurde Flüssigkeit aus dem gingivalen Sulcus von an Periodontitis erkrankten Patienten untersucht. EGCG konnte auch in

der Sulcusflüssigkeit die Collagenaseaktivität vollständig hemmen und könnte so der Entstehung periodontaler Erkrankungen vorbeugen.

2.4.4.2.3.6 Resistenzentwicklung

In chinesischen Studien konnte auch bei wiederholter Kultivierung von Streptokokken mit Grüntee-Polyphenolen in vitro keine Resistenzentwicklung festgestellt werden (YOU, 1993).

2.4.5 Einsatz von (-)-Epigallocatechingallat und anderen Teepolyphenolen in der Mundhygiene

Anti-Karies Effekt:

Die folgenden In-vitro-Effekte von EGCG lassen eine gute antikariogene Wirkung vermuten:

- direkter bakterizider Effekt gegen *Streptococcus mutans*
- Adhäsionshemmung von *Streptococcus mutans* an die Zahnoberflächen
- Hemmung der Glucosyltransferase und dadurch verminderte Produktion von Glucan

OTAKE et al. (1991) infizierten Ratten mit *Streptococcus mutans* und fütterten sie mit einer kariogenen Diät. Ratten, die über das Trinkwasser Tee-Polyphenole (18% EGCG) erhielten, zeigten eine signifikant niedrigere Karieshäufigkeit als die Tiere der Kontrollgruppe, die keine Polyphenole zugeführt bekamen.

Anti-Plaque-Effekt:

LIU und CHI (2000) untersuchten den Anti-Plaque Effekt einer Tablette aus Tee-Polyphenolen an Menschen. Die Versuchspersonen nahmen mehrmals täglich eine polyphenolhaltige Tablette ein, die Kontrollgruppe jeweils eine Placebotablette. Nach drei Wochen zeigte die Versuchsgruppe einen signifikant ($p < 0,01$) niedrigeren Plaqueindex als die Kontrollgruppe. Dieser Effekt konnte auch noch drei Wochen nach Beendigung der Tablettenaufnahmen aufrechterhalten werden.

Anti-Gingivitis-Effekt:

KRAHWINKEL und WILLERSHAUSEN (2000) untersuchten den Einfluss eines Kaubonbons mit Grün-Tee-Extrakt auf den Entzündungsgrad des Zahnfleisches. Zu Beginn des Versuches erhielten alle Testpersonen eine professionelle Zahnreinigung und wurden in zwei Gruppen eingeteilt. Die Versuchsgruppe erhielt täglich Kaubonbons mit Grüntee-Extrakt, die Placebogruppe erhielt Kaubonbons ohne Grüntee-Extrakt. Der Plaque-Index und der Sulcus-Blutungs-Index wurden eine und vier Wochen nach Versuchsbeginn gemessen. Beide Indices waren in der Versuchsgruppe jeweils deutlich niedriger als in der Placebogruppe

Verbesserung des Parodontal-Status:

HIRASAWA et al. (2002) untersuchten den Einfluss von Catechinen aus Grünem Tee auf Parodontopathien. Der Grüntee-Extrakt wurde mittels eines Hydroxypropylcellulose-Streifens, der die Catechine verzögert freisetzt, in periodontale Taschen eingebracht. Anschließend wurden die klinischen, mikrobiologischen und enzymatischen Effekte der Catechine untersucht. Die Sondierungstiefe und der Anteil der schwarz pigmentierten gramnegativen anaeroben Stäbchen an der Bakterienpopulation nahmen bei der Versuchsgruppe ab. Die Peptidase-Aktivität in der Sulkusflüssigkeit konnte über die ganze Testperiode in der Versuchsgruppe niedriger gehalten werden als in der Kontrollgruppe.

3 Material und Methoden

In der vorliegenden Arbeit wurde die Auswirkung von Lactoferrin (LF) und (-)-Epigallocatechingallat (EGCG) auf die Zahn- und Maulhöhlengesundheit von Katzen anhand eines „clean-tooth“-Modells (BOYCE und LOGAN, 1994) untersucht. Zusätzlich wurde die Wirksamkeit der eingesetzten Substanzen auf die Keimflora der Katzenmaulhöhle in vitro untersucht.

Als Nebenzielgröße wurde die antioxidative Kapazität der Wirkstoffe geprüft.

3.1 Versuchsaufbau

Die 18 zur Verfügung stehenden Katzen wurden in 2 Gruppen mit jeweils 9 Tieren aufgeteilt (Gruppe A und Gruppe B). Pro Substanz wurde eine Versuchsdauer von 28 Tagen festgelegt (entsprechend den Empfehlungen des Veterinary Oral Health Council (VOHC)). Im ersten Versuchsdurchlauf wurde der Einfluss von LF^{*1} untersucht, im zweiten von EGCG^{*2}. Zwischen den Versuchen wurde eine fünfwöchige wash-out-Phase eingehalten.

Am Zeitpunkt Tag 0 der Versuche wurden alle 18 Tiere nach einer gründlichen Allgemeinuntersuchung in Narkose gelegt. Nach der Blutentnahme und der Erhebung verschiedener Parameter in der Maulhöhle wurde vorhandener Zahnstein entfernt und die Zähne anschließend poliert („clean-tooth“-Modell). Dadurch wurde eine annähernd gleiche Ausgangssituation für alle Tiere geschaffen. Von Tag 1 bis Tag 28 wurde eine Gruppe mit Versuchsfutter (wirkstoffhaltig) gefüttert, die andere mit Kontrollfutter (wirkstofffrei). Nach 28 Tagen wurde erneut bei allen Katzen beider Gruppen eine Allgemeinuntersuchung durchgeführt, sowie Maulhöhlen- und Blutparameter in Narkose erhoben und anschließend miteinander verglichen. Der Versuchsablauf ist auch der Tabelle 3 zu entnehmen.

*¹: Lactoferrin: bovines Lactoferrin, Eisensättigung 16% (Fa. DSM Nutritional Products (ehemals Roche-Vitamins), Kaiseraugst, Schweiz)

*²: EGCG: TEAVIGO® (Fa. DSM Nutritional Products (ehemals Roche-Vitamins), Kaiseraugst, Schweiz), hochgereinigtes Extrakt aus den Blättern von *Camellia sinensis*, EGCG-Gehalt laut Hersteller mindestens 90%

Tabelle 3: Darstellung des Versuchsablaufes zur Untersuchung der Auswirkungen von LF (Versuch I) bzw. EGCG (Versuch II) auf die Maulhöhlengesundheit bei Katzen anhand des „clean-tooth“ Modells

Zeitpunkt	Versuchsablauf
Tag 0	Allgemeinuntersuchung, Narkose, Blutentnahme, Probenentnahme für die bakteriologische Untersuchung, Erhebung verschiedener Maulhöhlenparameter, Zahnsteinentfernung, Politur
Tag 1-27	Fütterung der Katzen der Wirkstoffgruppe (n=9) mit wirkstoffhaltigem Futter (Versuch I: Lactoferrin, Versuch II: EGCG), parallel jeweils Fütterung einer Kontrollgruppe (n=9) mit wirkstofffreiem Kontrollfutter
Tag 28	Allgemeinuntersuchung, Narkose, Blutentnahme, Probenentnahme für die bakteriologische Untersuchung, Erhebung verschiedener Maulhöhlenparameter

3.2 Versuchstiere

Für den Versuch standen 18 institutseigene Versuchskatzen der Rasse Europäisch Kurzhaar zur Verfügung (Tabelle 4). Die Katzen wurden nach Versuchsgruppen getrennt in Gruppen von zwei bis fünf Tieren in der Versuchstierhaltung Oberwiesenfeld des Lehrstuhls für Tierernährung der LMU München gehalten.

Die Katzen waren auf sechs verschiedene Käfige verteilt, einer davon mit Freigehege mit Grasbewuchs. Jeder Käfig war mit Kletter- und Spielmöglichkeiten sowie Katzent Toiletten ausgestattet. Alle Katzen hatten jederzeit freien Zugang zu Trinkwasser.

Die Tiere waren im Serumtest FeLV und FIV negativ, wurden vor Versuchsbeginn entwurmt und waren regelmäßig geimpft.

Vor Versuchsbeginn wurde bei allen Katzen zur Überprüfung des allgemeinen Gesundheitszustandes und der Narkosefähigkeit eine Allgemeinuntersuchung durchgeführt und verschiedene Blutparameter bestimmt (rotes Blutbild, weißes Blutbild mit Differentialblutbild, Thrombozyten, Leberenzyme: AST, ALT, GLDH, Nierenwerte: Harnstoff, Kreatinin, Elektrolyte: Phosphor, Chlorid, Natrium, Kalium, Calcium). Während der Versuche wurde der Gesundheitszustand der Tiere durch regelmäßige Untersuchungen kontrolliert.

Tabelle 4: Übersicht über die für den Versuch verwendeten Katzen, deren Gruppenzugehörigkeit (A/B), Geschlecht (m=männlich, w=weiblich, mk=männlich kastriert, wk=weiblich kastriert), Alter (in Jahren) und mittleres Körpergewicht während der Versuche (in kg)

Katzen- Nummer	Gruppe	Alter in Jahren	Geschlecht	Durchschnittliches Körpergewicht während der Versuche in [kg]
1	A	2	m	3,6
2	A	5	m	3,9
3	A	3	w	2,5
4	A	3	w	2,6
5	A	3	mk	4,4
6	A	4	w	3,7
7	A	6	mk	5,8
8	A	4	w	3,3
9	A	6	wk	4,8
10	B	2	m	3,8
11	B	2	m	3,7
12	B	6	mk	4,9
13	B	8	mk	5,8
14	B	5	mk	4,9
15	B	5	w	3,7
16	B	4	w	3,6
17	B	2	w	3,3
18	B	2	w	3,4

Gruppeneinteilung

Die Katzen wurden nach Alter und Geschlecht randomisiert in die Gruppen A und B eingeteilt, so dass jede Gruppe aus neun Tieren bestand. Diese Einteilung wurde in beiden Versuchen beibehalten.

Die Besetzung der Käfige wurde so gestaltet, dass nur Tiere derselben Gruppe (A/B) pro Käfig gehalten wurden. Dadurch war eine Fütterung in Gruppen möglich.

Im Versuch I bekam die Gruppe A das Versuchsfutter, die Gruppe B das Kontrollfutter. Im Versuch II bekam die Gruppe A das Kontrollfutter, die Gruppe B das Versuchsfutter (Tabelle 5).

Für den Untersucher wurde das Futter „verblindet“, so dass zu keinem Zeitpunkt der Versuche und der Laboranalysen bekannt war, welche Gruppe mit Kontroll- und welche mit Wirkstofffutter gefüttert wurde.

Tabelle 5: Einteilung der Katzen in die Kontroll- und Wirkstoffgruppe im Versuch I (Wirkstoff: Lactoferrin) und Versuch II (Wirkstoff: EGCG)

Gruppeneinteilung	Versuch I (LF-Versuch)	Versuch II (EGCG-Versuch)
Gruppe A (Katze-Nr.:1-9)	Lactoferrin	Kontrolle
Gruppe B (Katze-Nr.:10-18)	Kontrolle	(-)-Epigallocatechingallat

Tierversuchsgenehmigung

Nach § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes in der Fassung der Bekanntmachung vom 25.5.1998 (BGBl I S. 1105) wurde ein Antrag auf Genehmigung eines Tierversuchsvorhabens bei der Regierung von Oberbayern gestellt. Die Genehmigung wurde erteilt.

3.3 Versuchsfutter

Als Grundlage für das Versuchsfutter wurde das Trockenfutter „Minkas Vollkost“ der Firma Interquell Tierfeinnahrung, Wehringen, verwendet. Die Inhaltsstoffe laut Deklaration des Herstellers sind in Tabelle 6 und Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 6: Nährstoffgehalte des Versuchsfutters laut Deklaration des Herstellers in % der ursprünglichen Substanz (uS)

Nährstoffe	Menge	Einheit
Rohprotein	30	% uS
Rohfett	8,5	% uS
Rohfaser	2,5	% uS
Rohasche	10,0	% uS
Calcium	1,2	% uS
Phosphor	0,9	% uS
Natrium	0,45	% uS

Tabelle 7: Zusatzstoffgehalte des Versuchsfutters laut Deklaration des Herstellers

Zusatzstoffe	Menge	Einheit
Vitamin A	15000	I.E./kg
Vitamin D3	1500	I.E./kg
Vitamin E	125	mg/kg
Vitamin K	5	mg/kg
Vitamin B1	16	mg/kg
Vitamin B2	6	mg/kg
Pantothensäure	21	mg/kg
Niacin	50	mg/kg
Vitamin B6	6	mg/kg
Vitamin B12	32	µg/kg
Folsäure	1	mg/kg
Cholin	2100	mg/kg
Biotin	225	µg/kg
Eisen	80	mg/kg
Zink	80	mg/kg
Kupfer	8	mg/kg
Mangan	5	mg/kg
Jod	2	mg/kg
Selen	0,15	mg/kg

Die Präparierung des Versuchs- und Kontrollfutters wurde durch die Firma DSM Nutritional Products (ehemals Roche-Vitamins), Kaiseraugst, Schweiz, übernommen. Dazu wurde das Trockenfutter „Minkas Vollkost“ vor Aufbringen des Coatings vom Hersteller zur Verfügung gestellt. Die Wirkstoffe Lactoferrin und EGCG wurden in Wasser gelöst und mit dem Digest (durch Hydrolyse aus tierischem Gewebe gewonnene Flüssigkeit, Geschmacksträger) gemischt. Das Gemisch wurde auf die Kibbles (Trockenfutter-Brocken) aufgesprüht. Wie aus Tabelle 8 ersichtlich ist, betrug der Wirkstoffgehalt im Futter 227 mg EGCG / kg bzw. 517 mg Lactoferrin / kg. Auf das Kontrollfutter wurde wirkstofffreier Digest aufgebracht.

Tabelle 8: Wirkstoffgehalt im Futter

Futter	Wirkstoff	Menge
Nr. 5 ¹	EGCG	227 ppm
Nr. 7 ²	Lactoferrin	517 ppm
Nr. 8 und 1 ³	wirkstofffrei	0

¹Futter 5 = Versuchsfutter: Digest mit Zusatz von EGCG

²Futter 7 = Versuchsfutter: Digest mit Zusatz von Lactoferrin

³Futter 8 und 1 = Kontrollfutter: Digest ohne Zusatz von Wirkstoff

Bestimmung des Rohnährstoffgehaltes

Zur Kontrolle des Rohnährstoffgehaltes wurde von jeder Futterprobe (Kontrollfutter, Versuchsfutter mit EGCG, Versuchsfutter mit Lactoferrin) eine Weender Analyse nach NAUMANN UND BASSLER (1988) durchgeführt:

Trockensubstanz (TS):

Trocknung der Proben im Trockenschrank bei 103°C bis zur Gewichtskonstanz.

Abwiegen der Futterproben und Trocknung im Trockenschrank bis alles Rohwasser eingetrocknet ist. Abkühlung im Exsikkator, erneutes Wiegen.

Berechnung des TS-Gehaltes:

$$\text{TS (\% uS)} = (\text{Probengewicht nach Trocknung} / \text{Probengewicht vor Trocknung}) \times 100$$

Rohasche (Ra):

Veraschung der Probe im Muffelofen bei 550°C.

Abwiegen der Futterproben, sechsstündige Veraschung im Muffelofen bei 550°C, Wiegen des Rückstandes.

Berechnung des Ra-Gehaltes:

$$\text{Ra (\%TS)} = (\text{Probengewicht nach Veraschung} / \text{Probengewicht vor Veraschung}) \times 100$$

Rohfett (Rfe):

Säureaufschluss, anschließende achtstündige Extraktion der Probe mit Petroläther im Soxhletapparat.

Säurehydrolyse durch 30-minütiges Kochen mit konzentrierter Salzsäure (3molar), Abkühlung, anschließende Filtration und Trocknung. Danach achtstündige Ätherextraktion mit Petroleumbenzin im Soxhletapparat, Wiegen.

Berechnung des Rfe:

$$R_{fe} (\%TS) = (\text{Gewicht Extrakt} / \text{Gewicht Probe}) \times 100$$

Rohprotein (Rp):

Bestimmung mittels Kjeldahlverfahren.

Aufschluss der Probe mit konzentrierter Schwefelsäure und Überführung von Stickstoff in die Ammoniumform. Anschließend Stickstoffbestimmung (N) im AutoAnalyzer®II von BRAUN+LUEBBE durch Messung der Extinktionszunahme der gebildeten Ammonium-Salicylat-Komplexe bei 660 nm.

Berechnung des Rohproteins: Multiplikation von N mit dem Faktor 6,25. (mittlerer Stickstoffgehalt von Protein: 16%)

$$R_p (\%TS) = N \times 6,25$$

Rohfaser (Rfa):

Bestimmung durch Kochen in Säuren und Laugen im Fibertec®-Heißextraktor.

30-minütiges Kochen in 0,5 molarer Schwefelsäure, Waschen mit heißem Wasser. Anschließend 30-minütiges Kochen in 0,23 molarer Kalilauge, Waschen mit heißem Wasser und Aceton. Trocknung des Rückstandes im Trockenschrank, Wiegen.

Bestimmung des Rohaschegehaltes des Rückstandes durch einstündiges Veraschen im Muffelofen bei 500°C, Wiegen.

Berechnung der Rfa:

$$R_{fa} (\%TS) = ((\text{Gewicht Rückstand nach Trocknung} - \text{Gewicht Rohasche})/TS) \times 100$$

N-freie Extraktstoffe (NfE):

Rechnerische Erfassung durch folgende Formel:

$$NfE (\% TS) = TS - (R_a + R_{fe} + R_{fa} + R_p)$$

Die Ergebnisse der durchgeführten Weender Analysen sind der Tabelle 9 zu entnehmen.

Tabelle 9: Nährstoffgehalte des Versuchsfutters nach institutseigener Weender Analyse

Nährstoffe	Futter 5 ¹		Futter 7 ²		Futter 8 und 1 ³	
	%TS	%uS	%TS	%uS	%TS	%uS
Rp	30,60	27,63	30,09	27,231	30,67	27,76
Rfe	6,06	4,96	7,78	7,04	7,00	6,33
Ra	7,81	6,98	7,31	6,62	7,73	6,99
Rfa	2,31	1,89	2,69	2,43	2,16	1,95
NfE	44,92	40,65	43,53	39,39	42,54	38,50
TS		91,7		91,4		90,1
Feuchte		8,3		8,6		9,9

¹Futter 5 = Versuchsfutter: Digest mit Zusatz von EGCG

²Futter 7 = Versuchsfutter: Digest mit Zusatz von Lactoferrin

³Futter 8 und 1 = Kontrollfutter: Digest ohne Zusatz von Wirkstoff

Berechnung des Energiegehaltes in den Futtermitteln:

Bezugsgröße für die Berechnung des Energiegehaltes ist bei Katzen die umsetzbare Energie ME. Die Berechnung erfolgte nach der verbesserten Methode zur Vorhersage des Energiegehaltes in Hunde- und Katzenfutterzubereitungen (KIENZLE et al., 1998).

1. Berechnung des Bruttoenergiegehaltes (GE):
Multiplikation der Nährstoffgehalte mit ihren Brennwerten (MJ/100g)
 $GE (MJ/100g) = (Rp \times 24 + Rfe \times 38 + Rfa \times 17 + NfE \times 17) / 1000$
2. Schätzung der Verdaulichkeit der Energie anhand des Rfa-Gehaltes in der TS:
 $svGE(\%) = 87,9 + 0,88 \times Rfa (\%TS)$
3. Berechnung der Verdaulichen Energie DE:
 $DE (MJ/100g) = GE \times svGE(\%) / 100$
4. Berechnung der umsetzbaren Energie ME:
Berechnung der ME aus der DE nach Abzug einer N-Korrektur.
 $ME (MJ/100g) = DE - 0,0031 MJ \times Rp (g/100g)$

Die Energiegehalte der verwendeten Futter sind der Tabelle 10 zu entnehmen.

Tabelle 10: Energiegehalt der in den Versuchen verwendeten Futtermittel, berechnet nach Kienzle et al. (1998)

	Futter 5	Futter 7	Futter 8/1
Umsetzbare Energie/100g TS (ME)	1,49 MJ	1,53 MJ	1,48 MJ

¹Futter 5 = Versuchsfutter: Digest mit Zusatz von EGCG

²Futter 7 = Versuchsfutter: Digest mit Zusatz von Lactoferrin

³Futter 8/1 = Kontrollfutter: Digest ohne Zusatz von Wirkstoff

21 Tage vor Versuchsbeginn wurden die Katzen schrittweise an das Trockenfutter „Minkas Vollkost“ ohne Wirkstoffzusatz gewöhnt, bis zum Versuchsbeginn wurde es von allen Katzen gut akzeptiert. Die Futterzuteilung richtete sich nach dem Idealgewicht der Tiere, es wurde ein mittlerer Energiebedarf von 0,33 MJ ME / kg KM pro 24 h für Katzen in Gruppenhaltung angenommen (KAMPHUES et al., 1999). Zur Kontrolle der Gewichtskonstanz wurden die Katzen in regelmäßigen Abständen gewogen.

Aus praktischen Gründen wurde auf eine Fütterung in Einzelkäfigen verzichtet und die Katzen innerhalb ihrer Gruppe zusammen gefüttert.

Die Fütterung erfolgte zweimal täglich.

3.4 Erhebung der Parameter und Probenentnahme

3.4.1 Allgemeinuntersuchung

An Tag 0 und Tag 28 jedes Versuches wurde vor der Narkoseeinleitung eine Allgemeinuntersuchung durchgeführt (Haltung, Verhalten, Ernährungszustand, Pflegezustand, Haut und Haarkleid, Atmung, Temperatur, Puls, Herzauskultation, kapillare Füllungszeit, Palpation der Lnn. mandibulares und poplitei, Palpation Abdomen).

Außerdem wurde das aktuelle Gewicht festgestellt.

Bei sehr ängstlichen Tieren wurde auf einzelne Punkte der Allgemeinuntersuchung verzichtet (v.a. Temperaturmessung). Diese wurden dann schnellstmöglich in Narkose nachgeholt und entsprechend vermerkt.

3.4.2 Anästhesie

Zur Erhebung der Parameter in der Maulhöhle war eine Allgemeinnarkose notwendig. Diese wurde in Kooperation mit dem Klinikum Rechts der Isar (Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung, Arbeitsgruppe Experimentelle Chirurgie, Prof. Dr. Wolf

Erhardt, Dr. Julia Henke) durchgeführt. Die verwendeten Dosierungen sind in der Dissertation von EBNER (in Vorbereitung) nachzulesen.

Vor der Narkose lag eine 12-24 stündige Nahrungskarenz. Frisches Wasser war jederzeit für die Katzen zugänglich. Die Narkose wurde als Injektionsnarkose durchgeführt:

Intramuskuläre Injektion von Atropin (Atropinsulfat B. Braun®, Fa. Braun Melsungen, Melsungen) zur Prämedikation, fünf Minuten später intramuskuläre Injektion der Wirkstoffkombination Ketamin (Narketan 10®, Fa. Chassot, Schweiz), Medetomidin (Domitor®, Fa. Pfizer, Karlsruhe) und Midazolam (Midazolam-ratiopharm®, Fa. Ratiopharm, Ulm) in der Mischspritze.

Sofort nach Narkoseeintritt wurde ein Venenverweilkatheter (BD Venflon™ Pro, Fa. Becton Dickinson, Schweden) in die Vena cephalica antebrachii gelegt, um einen venösen Zugang für Notfälle zu schaffen und eine Propofolgabe (Propofol-ratiopharm®, Fa. Ratiopharm, Ulm) zu ermöglichen.

Propofol wurde bei Katzen, bei denen die intramuskuläre Injektion nicht zu einer ausreichend langen Anästhesie führte, zur Aufrechterhaltung der Narkose verwendet.

Auf eine Antagonisierung wurde verzichtet.

Die Lagerung der Katzen während der Untersuchungen erfolgte auf einer Wärmematte. Zum Schutz der Augen wurde Augensalbe (Bepanthen®, Fa. Hoffmann-LaRoche, Grenzach-Wyhlen) auf die Cornea aufgebracht.

3.4.3 Blutentnahme

Blutentnahmen fanden jeweils an den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 beim Legen des Venenverweilkatheters statt. Der Venenverweilkatheter wurde möglichst schnell nach Eintritt der Narkose gelegt und es wurde sofort Blut entnommen. Bei wenigen Katzen konnte keine ausreichende Menge gewonnen werden, so dass eine erneute Punktion (V. femoralis) nötig wurde. Durch die Nahrungskarenz vor der Narkose waren die Tiere zum Entnahmezeitpunkt immer nüchtern.

Für die Erstellung des roten und weißen Blutbildes wurde ca. 1ml Vollblut in ein mit Kalium-EDTA beschichtetes Röhrchen (Fa. Sarstedt, Mannheim) entnommen. Für die Serumgewinnung wurden ca. 3.5 ml Vollblut in ein Serumröhrchen mit Zentrifugierhilfekügelchen (Fa. Sarstedt, Mannheim) entnommen.

Das gewonnene EDTA-Blut wurde direkt nach der Abnahme im Kühlschrank gelagert und am selben Tag im Labor der 1. Medizinischen Tierklinik der LMU München verarbeitet. Die Bestimmung der hämatologischen Parameter erfolgte mit einem automatischen

Multiparameter-Hämatologie-Analysengerät (Cell-Dyn® 3500 System, Abbott Diagnostics, USA). Folgende Parameter wurden bestimmt:

- a) rotes Blutbild: Erythrozytenanzahl (in $10^{12}/l$), Hämoglobin (in mmol/l), Hämatokrit (in %), mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC) (in mmol/l), mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten (MCH) (in fmol) und mittleres Erythrozytenvolumen (MCV) (in fl).
- b) Differentialblutbild: gesamte Leukozytenanzahl (in $10^9/l$), absolute (in $10^9/l$) und relative (in % der gesamt Leukozytenanzahl) Angaben der neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten, eosinophilen und basophilen Granulozyten.

Dem Vollblut für die Gewinnung der Serumproben wurde zunächst bei Raumtemperatur 10 Minuten Zeit gegeben vollständig zu gerinnen, anschließend wurde es mit 3000 U/min 10 Minuten zentrifugiert. Das Serum wurde abpipettiert und in Reagiergefäße (Fa. Sarstedt, Mannheim) überführt.

Aus diesem Serum wurden fünf Aliquots für die folgenden Bestimmungen gewonnen:

Vitamin C, Vitamin E, Aspartat-Aminotransferase (AST), Creatin-Kinase (CK) und Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC). Außerdem wurde ein weiteres Aliquot für die Bestimmung von Harnstoff, Kreatinin und Fructosamin zur Überwachung des Gesundheitszustandes entnommen. Am Zeitpunkt Tag 28 des Versuches II wurde ein zusätzliches Aliquot für die Kontrolle der Leberenzyme (ALT, GLDH) entnommen.

Das Serum für die Vitamin-C-Bestimmung wurde direkt mit 5%iger meta-Phosphorsäure im Verhältnis 1:1 (v/v) versetzt. Die Aliquots für die TEAC-Bestimmung wurden bei -80°C tiefgefroren und gelagert, die anderen Aliquots wurden bei -20°C eingefroren und gelagert.

Die Serumproben für die Überprüfung der Harnstoff-, Kreatinin-, Leber- und Fructosaminwerte wurden gekühlt in die 1. Medizinische Tierklinik transportiert und vom dortigen Labor innerhalb von 24 Stunden verarbeitet. Die Analysen erfolgten mit einem Analysenautomaten (Hitachi 911, Fa. Roche Diagnostics GmbH, Mannheim).

Im Versuch II wurde zusätzlich bei allen Tieren am Tag 25 des Versuches eine Probe zur Bestimmung des EGCG-Plasmaspiegels entnommen. Der Entnahmezeitpunkt lag bei allen Katzen ca. zwei Stunden nach der Fütterung (angenommener Höhepunkt des Plasmaspiegels). An den wachen Katzen wurde aus der V. femoralis mit einer Kanüle (20G) 1 ml Blut in ein EDTA-Röhrchen (Fa. Sarstedt, Mannheim) entnommen. Die Probe wurde sofort kühl gestellt (4°C). Innerhalb von maximal vier Stunden wurden die Proben 15 Minuten mit 3500 U/min

zentrifugiert und das Plasma abpipettiert. Zur Stabilisierung wurde das Plasma im Verhältnis 1:1(v:v) mit Puffer versetzt und anschließend bei -80°C eingefroren.

Herstellung des verwendeten Puffers:

35mM Phosphatpuffer, pH- Wert 5,0, wurde mit 1% Ascorbinsäure (L-Ascorbic acid (Vitamin C), Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) und 0.01% Kalium-EDTA (Ethylendiamin-Tetraessigsäure-Dikaliumsalz-Dihydrat, Carl Roth GmbH&Co, Karlsruhe) versetzt. Der pH-Wert der Endmischung wurde mit KOH auf 3,6 eingestellt.

Die Proben wurden wenige Tage nach der Entnahme auf Trockeneis an die Firma DSM Nutritional Products, Kaiseraugst (Schweiz) zur EGCG-Analytik geschickt.

3.4.4 Untersuchung der Maulhöhle

Im Folgenden werden die Zähne nach dem modifizierten Triadan-System benannt (Abbildung 4). In diesem System wird jedem Zahn eine dreistellige Nummer zugeteilt. Die erste Zahl steht für den Quadranten in dem der Zahn liegt, die zweite und dritte Zahl stehen für die Position des Zahnes in der Zahnreihe, von mesial beginnend (Abbildung 5).

- die Nummern der Zähne im rechten oberen Quadranten beginnen mit 1
- die Nummern der Zähne im linken oberen Quadranten beginnen mit 2
- die Nummern der Zähne im linken unteren Quadranten beginnen mit 3
- die Nummern der Zähne im rechten unteren Quadranten beginnen mit 4

Die Position der Zähne in der Zahnreihe wird mit Zahlen von 01 (ganz mesial) bis 09 (bei der Katze ganz distal) angegeben (JOHNSTON, 2001).

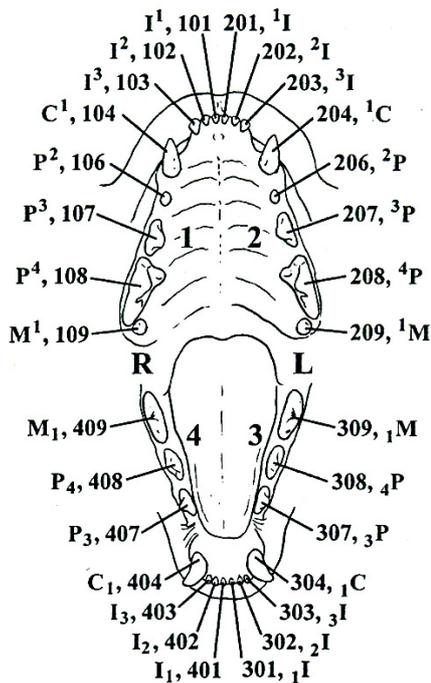


Abbildung 4: Nomenklatur der Zähne der Katze nach dem modifizierten Triadan-System

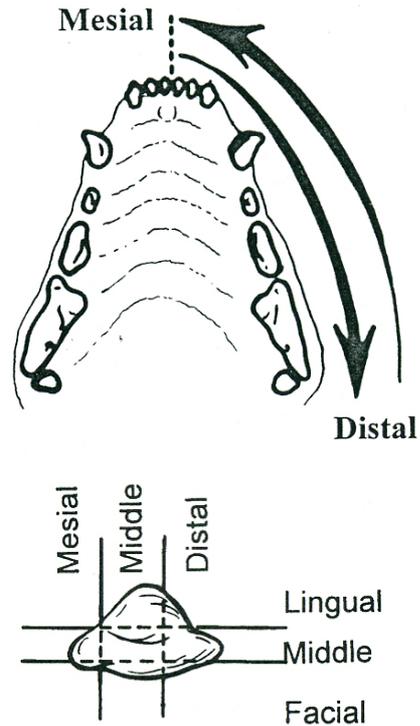


Abbildung 5: Darstellung der Richtungsbezeichnungen in der Maulhöhle und am Zahn

Der Gingivitisindex, die Sondierungstiefe, der Mobilitätsindex, der Zahnsteinindex und der Plaqueindex wurden an den folgenden 12 Zähnen bestimmt:

Oberkiefer	Links	204,207,208
	Rechts	104,107,108
Unterkiefer	Links	304,308,309
	Rechts	404,408,409

Der Furkationsindex kann nur an mehrwurzeligen Zähnen bestimmt werden. Deshalb wurden zur Bestimmung des Furkationsindex folgende 10 Zähne untersucht:

Oberkiefer	Links	207,208
	Rechts	107,108
Unterkiefer	Links	307,308,309
	Rechts	407,408,409

3.4.4.1 Entnahme der Proben für die bakteriologische Untersuchung

Die Entnahme der Proben für die bakteriologische Untersuchung fand als erste Handlung sofort nach Narkoseeintritt und Blutentnahme statt, um eine Kontaminierung durch andere Manipulationen in der Maulhöhle zu verhindern.

Der Untersucher trug Mundschutz sowie Untersuchungshandschuhe, um eine versehentliche Kontaminierung der Proben zu vermeiden.

Tupferprobenentnahme:

Zur Entnahme wurde ein Tupfer mit Transportmedium (Portagerm AmiesAgarSwab, Fa. bioMérieux sa, Marcy l'Etoile, Frankreich) verwendet. Mit dem Tupfer wurde vom dritten Prämolaren des linken Unterkiefers (307) eine Plaqueprobe genommen. Dazu wurde der Tupfer ohne Berührung der Lippen oder Schleimhäute auf den Zahn aufgesetzt und durch drehende Bewegungen Plaque entnommen. Der Tupfer wurde sofort nach Entnahme steril in das Transportmedium verbracht und dicht verschlossen. Die Lagerung bis zur Verarbeitung am nächsten Tag erfolgte bei 8°C in einem Topf zur Bebrütung anaerob wachsender Bakterien (Anaerobiertopf, Fa. Oxoid, Basinkstoke, England), in dem durch AnaeroGen® (Fa. Oxoid) ein anaerobes Milieu geschaffen wurde.

Papierspitzenentnahme:

Zur Entnahme von Probenmaterial aus dem gingivalen Sulcus wurden sterile Papierspitzen der Größe #20 mit gelber Farbcodierung verwendet (Absorbent Paper Points, VDW® GmbH, München). Die Papierspitzen wurden mit einer sterilen Augenpinzette aus der Packung entnommen und mit der Spitze in den gingivalen Sulcus eingelegt ohne dabei den Zahn zu berühren. Pro Katze wurden drei Papierspitzen verwendet, die an den folgenden drei Stellen in den gingivalen Sulcus eingelegt wurden: linker oberer und unterer Caninus (Zähne 204, 304) und linker oberer dritter Prämolare (Zahn 207). Die Papierspitzen wurden für 15 Sekunden im gingivalen Sulcus belassen und dann mit der sterilen Pinzette in ein Flüssigmedium für Anaerobier (Milieu de Rosenow-Cystein, Fa. Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, Frankreich) überführt. Alle drei Papierspitzen einer Katze wurden in dasselbe Medium verbracht. Die Lagerung der Medien bis zur Verarbeitung am nächsten Tag erfolgte ebenso wie die der Tupferproben im Anaerobiertopf bei 8°C.

In Versuch I wurden diese Proben am Zeitpunkt Tag 0 von allen Katzen genommen, am Zeitpunkt Tag 28 nur noch bei vier ausgewählten Katzen (2 pro Gruppe). Diese Katzen

wurden aufgrund ihrer unterschiedlichen Keimdichte und -vielfalt beim Wachstum auf Blutagarplatten ausgesucht. Aus jeder Gruppe wurde eine Katze mit hoher Bewuchsdichte (Katzen 1 und 12) und eine mit geringer Bewuchsdichte (Katze 4 und 12) ausgesucht. In Versuch II wurden sowohl am Zeitpunkt Tag 0 als auch Tag 28 nur bei 4 Katzen (2 pro Gruppe) Proben genommen.

Diese vier Katzen waren an allen Entnahmezeitpunkten dieselben (Katzen Nr. 1, 4, 11 und 12).

3.4.4.2 Halitosemessung

Verwendung zwei verschiedener Methoden:

Organoleptische Beurteilung:

Zur organoleptischen Messung wurde die Maulhöhle der Katzen geöffnet und so nahe wie möglich an den Zähnen gerochen.

Die Einteilung der organoleptisch beurteilten Halitose erfolgte aufgrund der Intensität des Geruches in vier verschiedenen Stufen, die aus der Tabelle 11 zu entnehmen sind.

Tabelle 11: Einteilung der organoleptisch erfassten Halitose in vier verschiedene Intensitätsgrade

Halitosegrad	Geruchsintensität
0	kein Maulhöhlengeruch feststellbar
1	leichter Maulhöhlengeruch feststellbar, nicht unangenehm
2	mittlerer, unangenehmer Maulhöhlengeruch
3	starker, sehr unangenehmer Maulhöhlengeruch

Die organoleptische Beurteilung des Maulhöhlengeruchs wurde immer von der gleichen Person durchgeführt.

Messung mit dem Halimeter®

Zur objektiven Erfassung des Maulhöhlengeruchs wurde ein Halimeter® (Fa. Interscan, Chatworth, Kanada) aus der Humanmedizin benutzt (Abbildung 6).



Abbildung 6: Halimeter®-Front

Das Gerät enthält einen Sensor, der die reduzierten Schwefelkomponenten in der Atemluft quantifiziert (H_2S , Methylmerkaptan, Dimethylsulfid).

Zur Messung im Katzenmaul wurde der automatische Messzyklus, bestehend aus drei Messungen im Abstand von jeweils 180 Sekunden gewählt. Zur Messung wurde für jedes Tier ein neuer Kunststoff-Trinkhalm in den Gaseingangsschlauch gesteckt. Die Spitze des Halmes wurde durch einen ca. 0,5 mm breiten Aufsatz aus Plastik vor direktem Kontakt mit dem Zungenrücken geschützt. Auch der Aufsatz wurde vor Untersuchung jedes Tieres erneuert. Zu Beginn der Messung wurde die Maulhöhle der Katze für drei Minuten geschlossen gehalten. Auf das Signal des Halimeters hin, wurde der Halm in die Maulhöhle so eingelegt, dass sich die Spitze über dem Zungenrücken befand. Dann wurde das Maul geschlossen ohne den Trinkhalm zu komprimieren oder den Gasfluss zu stören. Nach 30 Sekunden beendet das Halimeter® die Messung und beginnt die erste Stabilisierungspause (Orientierung an der Raumluft), in der die Werte zunächst schnell bis in den negativen Bereich hinein abfallen und sich dann langsam dem 0-Wert annähern. Die Stabilisierungspause dauert 180 Sekunden. Ihr folgt die zweite Messung, eine zweite Stabilisierungspause und schließlich die dritte Messung.

Pro Katze wurde ein Messzyklus durchgeführt. Bei stark streuenden Werten wurde eine weitere manuelle Messung angeschlossen, so dass insgesamt vier Messwerte vorlagen, aus denen ein Mittelwert gebildet wurde. Zusätzlich wurden die Messkurven am Computer mit der Halimetersoftware Halisoft® aufgezeichnet (Abbildung 7).

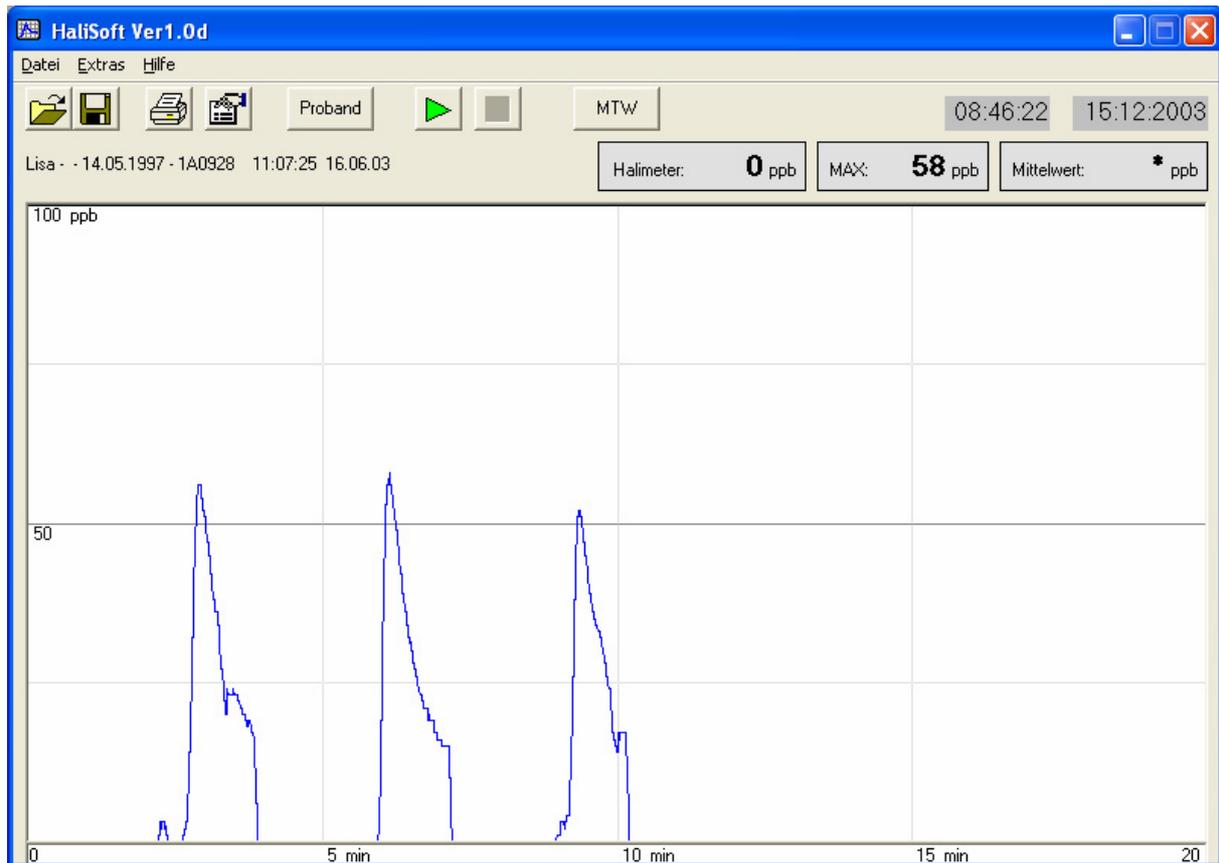


Abbildung 7: Halimeter®-Protokoll

3.4.4.3 Gingivitisindex

Durch die Erhebung des Gingivitisindex (modifiziert nach GORREL et al. (1998)) wurde der Grad der Gingivitis an der Gingiva der im Abschnitt 3.4.4 genannten 12 Zähne bestimmt.

Die zu beurteilende Gingiva wird dazu in drei Abschnitte unterteilt: mesial, buccal und distal. Jeder dieser Abschnitte wird einzeln beurteilt, so dass sich pro Zahn drei Werte ergeben.

Die Gingiva wird zunächst optisch auf Rötung und spontane Blutung untersucht.

Dann wird mit einem Parodontometer mit definiertem Anschlag bei 0,2 Newton (Fa. AESCULAP®, Tuttlingen) in den gingivalen Sulcus eingegangen und das Parodontometer mit gleich bleibendem leichtem Druck von mesial über buccal nach distal im gingivalen Sulcus entlang gezogen. Dabei wird beurteilt, ob es zu Blutungen kommt.

Nach den Kriterien Rötung und Blutung (spontan/nach Sondierung) erfolgt die Einteilung in fünf verschiedene Gingivitisgrade, die aus der Tabelle 12 zu entnehmen sind.

Tabelle 12: Einteilung der Gingivitis in fünf verschiedene Gingivitisgrade

Gingivitisgrad	Rötung /Blutung
0	gesunde Gingiva: keine Rötung, keine Blutung
0,5	milde Gingivitis: geringgradige Rötung (reicht <1 mm vom Zahnfleischrand nach dorsal/ventral), keine Blutung
1	mittlere Gingivitis: mittelgradige Rötung (reicht 1-2 mm vom Zahnfleischrand nach dorsal/ventral), keine Blutung
2	Starke Gingivitis: hochgradige Rötung (reicht 2-3 mm vom Zahnfleischrand nach dorsal/ventral), Blutung nach Sondierung
3	Schwere Gingivitis: höchstgradige Rötung (> 3 mm vom Zahnfleischrand nach dorsal/ventral), spontane Blutung

Berechnung des Gingivitisindex (Tabelle 13):

Der Mittelwert der drei Werte jedes Zahnes (mesial, buccal und distal) ergibt den Gingivitisindex für den einzelnen Zahn.

Der Mittelwert der Gingivitisindices aller beurteilten Zähne einer Katze ergibt den Gingivitisindex der Katze.

Der Mittelwert der Gingivitisindices aller Katzen einer Gruppe ergibt den Gingivitisindex der Gruppe.

Tabelle 13: Berechnung des Ginivitisindex (GI) pro Zahn, pro Katze und pro Gruppe

$$(GI_{\text{mesial}} + GI_{\text{buccal}} + GI_{\text{distal}})/3 = GI_{\text{Zahn}}$$

$$(GI_{\text{Zahn1}} + GI_{\text{Zahn2}} + \dots + GI_{\text{Zahn12}})/12 = GI_{\text{Katze}}$$

$$(GI_{\text{Katze 1}} + GI_{\text{Katze 2}} + \dots + GI_{\text{Katze 9}})/9 = GI_{\text{Gruppe}}$$



Abbildung 8: Parodontometer mit definiertem Anschlag bei 0,2 Newton (Fa. AESCULAP®, Tuttlingen) zur Bestimmung des Gingivitisindex und der Sondierungstiefe

3.4.4.4 Sondierungstiefe

Die Sondierungstiefe nach DOBRESCU (1993) wurde an den unter 3.4.4 genannten 12 Zähnen bestimmt.

Das in Abbildung 8 gezeigte Parodontometer wird vorsichtig zwischen freiem Gingivarand und Zahnoberfläche parallel zum Zahn in den gingivalen Sulcus eingeführt und vorgeschoben bis ein Widerstand fühlbar ist. Dann wird an der Skala des Parodontometers (1mm Skalierung) die Strecke zwischen Gingivarand und apikaler Epithelanheftung in mm abgelesen. Die Sondierungstiefe wird durch Verschieben der Sonde von mesial über buccal nach distal an drei Stellen pro beurteilten Zahn erhoben.

Außerdem wurde vorhandene Gingivarezession oder-hypertrophie dokumentiert.

Berechnung der Sondierungstiefe (Tabelle 14):

Der Mittelwert der drei Werte jedes Zahnes (mesial, buccal und distal) ergibt die Sondierungstiefe für den einzelnen Zahn.

Der Mittelwert der Sondierungstiefen aller beurteilten Zähne einer Katze ergibt die Sondierungstiefe der Katze.

Der Mittelwert der Sondierungstiefen aller Katzen einer Gruppe ergibt die Sondierungstiefe der Gruppe.

Tabelle 14: Berechnung der Sondierungstiefe (PD) pro Zahn, pro Katze und pro Gruppe

$$(PD_{\text{mesial}} + PD_{\text{buccal}} + PD_{\text{distal}}) / 3 = PD_{\text{Zahn}}$$

$$(PD_{\text{Zahn1}} + PD_{\text{Zahn2}} + \dots + PD_{\text{Zahn12}}) / 12 = PD_{\text{Katze}}$$

$$(PD_{\text{Katze 1}} + PD_{\text{Katze 2}} + \dots + PD_{\text{Katze 9}}) / 9 = PD_{\text{Gruppe}}$$

3.4.4.5 Mobilitätsindex

Mit einer Sonde wird die Beweglichkeit des Zahnes im knöchernen Zahnfach getestet.

Der Mobilitätsindex (MI) wurde an den unter 3.4.4 genannten 12 Zähnen bestimmt.

Eine Parodontalsonde wird parallel zur Zahnfleischoberfläche an die okklusale Hälfte des Zahnes angelegt. Dann wird in bucco-lingualer Richtung eine Druckkraft ausgeübt, um die Beweglichkeit des Zahnes zu beurteilen. Die Beurteilung erfolgt in vier Graden, die aus der Tabelle 15 zu entnehmen sind.

Tabelle 15: Einteilung des Mobilitätsindex (MI) in vier verschiedene Grade

Mobilitätsindex	Beweglichkeit des Zahnes im Zahnfach
0	keine feststellbare Bewegung
1	weniger als 1 mm bucco-linguale Beweglichkeit
2	bucco-linguale Beweglichkeit zwischen 1 und 2 mm
3	bucco-linguale Beweglichkeit überschreitet 2 mm und/oder messbare vertikale Beweglichkeit

Berechnung des Mobilitätsindex (Tabelle 16):

Der Mittelwert der Mobilitätsindices aller beurteilten Zähne einer Katze ergibt den Mobilitätsindex der jeweiligen Katze.

Der Mittelwert aller Mobilitätsindices aller Katzen einer Gruppe ergibt den Mobilitätsindex der Gruppe

Tabelle 16: Berechnung des Mobilitätsindex (MI) pro Katze und pro Gruppe

$$(MI_{\text{Zahn1}} + MI_{\text{Zahn2}} + \dots + MI_{\text{Zahn12}}) / 12 = MI_{\text{Katze}}$$

$$(MI_{\text{Katze 1}} + MI_{\text{Katze 2}} + \dots + MI_{\text{Katze 9}}) / 9 = MI_{\text{Gruppe}}$$

3.4.4.6 Furkationsindex

Der Furkationsindex beschreibt den Verlust von Stützgewebe des Zahnes.

Er wurde an den im Abschnitt 3.4.4 genannten zehn (mehrwurzeligen) Zähnen bestimmt.

Eine Parodontalsonde wird im Furkationsbereich angesetzt und in vier Graden beurteilt, wie weit der Verlust von Stützgewebe vorangeschritten ist (Tabelle 17).

Tabelle 17: Einteilung des Furkationsindex (FI) in vier verschiedene Grade

Furkationsindex	Verlust von Stützgewebe
0	kein Verlust von Stützgewebe
1	horizontaler Verlust von Stützgewebe, nicht mehr als 1/3 der Zahnbreite
2	horizontaler Verlust von Stützgewebe, mehr als 1/3 der Zahnbreite aber nicht die ganze Breite des Furkationsbereiches umfassend
3	horizontaler Verlust von Stützgewebe, Ausdehnung über den gesamten Furkationsbereich

Berechnung des Furkationsindex (Tabelle 18):

Der Mittelwert der Furkationsindices aller beurteilten Zähne einer Katze ergibt den Furkationsindex der Katze.

Der Mittelwert der Furkationsindices aller Katzen einer Gruppe ergibt den Furkationsindex der Gruppe.

Tabelle 18: Berechnung des Furkationsindex pro Katze und pro Gruppe

$$(FI_{\text{Zahn1}} + FI_{\text{Zahn 2}} + \dots + FI_{\text{Zahn 10}}) / 10 = FI_{\text{Katze}}$$

$$(FI_{\text{Katze 1}} + FI_{\text{Katze 2}} + \dots + FI_{\text{Katze 9}}) / 9 = FI_{\text{Gruppe}}$$

3.4.4.7 Plaqueindex

Zur Bestimmung des Plaqueindex (modifiziert nach BOYCE (1992)) wird die auf den Zähnen vorhandene Plaque mit Färbelösung eingefärbt und dadurch besser sichtbar gemacht.

Dazu wurde die Mira-2-Ton®-Lösung der Firma Hager&Werken, Düsseldorf, (Chargennummer: 472104 und 162387) verwendet.

Bei der Mira-2-Ton-Lösung handelt es sich um einen zweifarbigen Plaqueindikator mit den Lebensmittelfarbstoffen Phloxin-B (C.I. acid red 92) und Patentblau (E131).

Alte Plaque wird damit rötlich und erst vor kurzem entstandene Plaque blau eingefärbt. Bei der Bestimmung des Plaqueindex wurde jedoch nur der Grad der Einfärbung beurteilt, unabhängig vom Farbton.

Vorgehen bei der Plaqueanfärbung:

Mira-2-Ton-Lösung wird großzügig auf ein Wattestäbchen getropft. Mit diesem wird die Lösung auf die zu beurteilenden Zahnoberflächen aufgebracht. Das geschieht ohne Druck, um keine Plaque zu entfernen. Nachdem alle Zähne gut mit Farblösung bedeckt sind, wird mit Hilfe einer Sprühflasche mit Leitungswasser (1-2 Sprühstöße mit feiner Zerstäubung aus ca. 10-15 cm Entfernung) die überschüssige Farbe abgespült. Die dann noch vorhandene Einfärbung (=angefärbte Plaque) wird zur Beurteilung des Plaqueindex verwendet.

Der Plaqueindex wurde an den unter 3.4.4 genannten 12 Zähnen bestimmt.

Jeder Zahn wird in eine occlusale und eine gingivale Hälfte unterteilt. Jede Hälfte wird für sich evaluiert. Beurteilt werden der Grad der Bedeckung (Tabelle 19) und, anhand der Farbintensität, die Dicke der Farbschicht (Tabelle 20).

Tabelle 19: Beurteilung des Grades der Plaquebedeckung für den Plaqueindex (PI)

Plaqueindex Bedeckungsgrad	Anteil der farbbedeckten Flächen an der Gesamtfläche des Zahnes
0	Keine Plaque
1	< 25% der Fläche bedeckt
2	25-49% der Fläche bedeckt
3	50-74% der Fläche bedeckt
4	>75% der Fläche bedeckt

Tabelle 20: Beurteilung der Intensität der Anfärbung (Dicke) für den Plaqueindex (PI)

Plaqueindex Farbintensität	Intensität der Anfärbung
0	keine Anfärbung sichtbar
1	Leicht (L)
2	Mittel (M)
3	Schwer (S)

Für jede Zahnhälfte wird ein Plaqueindex bestimmt. Dafür werden Dicke (Farbintensität) und Grad der Bedeckung multipliziert:

$$PI_{\text{Occlusal}} = \text{Bedeckung} \times \text{Dicke}$$

$$PI_{\text{Gingival}} = \text{Bedeckung} \times \text{Dicke}$$

Die Addition von PI_{gingival} und PI_{occlusal} ergibt den PI_{Zahn}

Der Mittelwert der Plaqueindices aller beurteilten Zähne einer Katze ergibt den Plaqueindex für die Katze.

Der Mittelwert der Plaqueindices aller Katzen einer Gruppe ergibt den Plaqueindex der Gruppe (Tabelle 21).

Tabelle 21: Berechnung des Plaqueindex (PI) pro Zahn, pro Katze und pro Gruppe

$$PI_{\text{okklusal}} + PI_{\text{gingival}} = PI_{\text{Zahn}}$$

$$(PI_{\text{Zahn1}} + PI_{\text{Zahn2}} + \dots + PI_{\text{Zahn12}}) / 12 = PI_{\text{Katze}}$$

$$(PI_{\text{Katze 1}} + PI_{\text{Katze 2}} + \dots + PI_{\text{Katze 9}}) / 9 = PI_{\text{Gruppe}}$$

Zur zusätzlichen Dokumentation wurden die angefärbten Gebisse aller Katzen von beiden Seiten jeweils von lateral fotografiert (Abbildung 9).



Abbildung 9: Plaqueanfärbung mit Mira-2-Ton

3.4.4.8 Zahnsteinindex

Zur Erfassung der Neubildung von Zahnstein wurde der Zahnsteinindex nach BOYCE (1992) an Tag 28 des jeweiligen Versuchs bestimmt. Der Zahnsteinindex wurde an den unter 3.4.4 genannten 12 Zähnen bestimmt.

Um den Zahnstein besser sichtbar zu machen, wurden die Zähne nach Entfernung der Plaque im Rahmen der Erhebung des Plaqueindex, mit einem Kaltluftfön getrocknet. Durch die Trocknung erscheint der Zahnstein kalkweiß und hebt sich gegen die Zahnoberfläche besser ab. Der Grad der Bedeckung des Zahnes mit Zahnstein wird an jedem Drittel eines Zahnes einzeln visuell bestimmt (Tabelle 22).

Tabelle 22: Einteilung der Zahnsteinindex in fünf verschiedene Grade

Zahnsteinindex	Ausdehnung des Zahnsteins
0	kein sichtbarer Zahnstein
1	Zahnstein dehnt sich weniger als $\frac{1}{4}$ der Strecke bis zum distalen Ende des Zahnes aus
2	Zahnstein dehnt sich weniger als $\frac{1}{2}$ der Strecke bis zum distalen Ende des Zahnes aus
3	Zahnstein dehnt sich weniger als $\frac{3}{4}$ der Strecke bis zum distalen Ende des Zahnes aus
4	Zahnstein dehnt sich mehr als $\frac{3}{4}$ der Strecke bis zum distalen Ende des Zahnes aus

Berechnung des Zahnsteinindex (Tabelle 23):

Die Addition der drei Werte jedes Zahnes (mesial, buccal und distal) ergibt den Zahnsteinindex für den einzelnen Zahn.

Der Mittelwert der Zahnsteinindices aller beurteilten Zähne einer Katze ergibt den Zahnsteinindex der Katze.

Der Mittelwert der Zahnsteinindices aller Katzen einer Gruppe ergibt den Zahnsteinindex der Gruppe.

Tabelle 23: Berechnung des Zahnsteinindex (CI) pro Zahn, pro Katze und pro Gruppe

$$CI_{\text{mesial}} + CI_{\text{buccal}} + CI_{\text{distal}} = CI_{\text{Zahn}}$$

$$(CI_{\text{Zahn1}} + CI_{\text{Zahn2}} + \dots + CI_{\text{Zahn12}}) / 12 = CI_{\text{Katze}}$$

$$(CI_{\text{Katze 1}} + CI_{\text{Katze 2}} + \dots + CI_{\text{Katze 9}}) / 9 = CI_{\text{Gruppe}}$$

3.4.4.9 Zahnsteinentfernung

Die Zahnsteinentfernung wurde mit einem Ultraschall-Zahnsteinentfernungsgerät vorgenommen (P5 Pro Vet 230 V®, ZEG Spitze No. 1, Fa. Satelec, Frankreich).

Bei Bedarf wurde zusätzlich eine Kürette nach Gracey zur Hilfe genommen.

Da eine Intubation aus Narkosegründen und aus Gründen der Parametererhebung nicht möglich war, wurden die Katzen zur Zahnsteinentfernung mit dem Kopf nach unten auf eine schiefe Ebene gelegt, um die Aspiration von Kühlwasser und Zahnsteinpartikeln zu vermeiden.

Um den Zahnschmelz nicht unnötig zu belasten, wurde das Zahnsteinentfernungsgerät nur an Stellen eingesetzt, an denen tatsächlich Zahnstein vorhanden war.

Bei der Einstellung des Gerätes wurde eine mittlere Intensität (8-9 auf einer Skala von 1-15) gewählt und bei allen Tieren beibehalten.

Um eine thermische Schädigung der Pulpa zu verhindern, wurde die Arbeitsspitze ohne Druck und mit ausreichendem Fluss von Kühlwasser über die Zahnoberflächen geführt. Pro Zahn wurde nie länger als 10 Sekunden ohne Unterbrechung Zahnstein mit dem Ultraschallgerät entfernt.

3.4.4.10 Politur

Nach der Zahnsteinentfernung wurde eine Politur vorgenommen, um die aufgeraute Zahnoberfläche wieder zu glätten. Dazu wurden Einweg-Poliernäpfe (Fa. Heiland) und eine handelsübliche Polierpaste (Depurdent®, Dr. Wild) eingesetzt. Für jede Katze wurde ein neuer Poliernapf verwendet.

Die Poliernäpfe wurden auf ein Winkelstück (Fa. Nouvag, Goldach, Schweiz) aufgesetzt, der Antrieb erfolgte durch den Micro-Motor NM 3000 (Fa. Nouvag, Goldach, Schweiz). Die Geschwindigkeit wurde auf maximal 3.000 Umdrehungen/min eingestellt. Einzelne Zähne wurden nie länger als 10 Sekunden ohne Unterbrechung mit minimalem Druck und ausreichend Polierpaste poliert, um eine Überhitzung zu vermeiden.

3.5 Laboruntersuchungen

3.5.1 Bakteriologische Untersuchung

Die bakteriologischen Untersuchungen wurden in Kooperation mit Frau Dr. Kahlau am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit - Dienststelle Oberschleißheim (LGL-OS) durchgeführt.

3.5.1.1 Verarbeitung und Anzucht der entnommenen Proben

Die entnommenen Proben wurden über Nacht bei 8° Celsius unter anaeroben Bedingungen gelagert und am folgenden Tag verarbeitet:

Tupferproben:

In sterile Cups (Fa. Eppendorf, Hamburg) wurde jeweils 1 ml sterile 0,9%ige NaCl-Lösung einpipettiert. In dieser Lösung wurde der Tupfer ausgewaschen. Von der entstehenden Bakteriensuspension (im Folgenden als „Tupfer-Suspension“ bezeichnet) wurde mit Einmal-Ösen (Bioloop®, Fa. TYCO Healthcare Group LP, Mansfield, USA) eine Menge von je 10 µl entnommen, auf zwei Schafblutagarplatten (LGL-OS) ausgebracht und dort mittels Drygalski-Spatel ausgespatelt. Eine Platte wurde anaerob, die andere aerob bebrütet.

Papierspitzen:

Die Rosenow-Bouillons mit den enthaltenen Papierspitzen wurden mit Paraffin verschlossen und vier Tage bei 37°C bebrütet. Nach dieser Zeit wurde der Paraffinpfropf durch vorsichtige Erhitzung gelöst und mit einer Einmal-Öse eine Menge von je 10 µl von der Bouillon

entnommen, auf zwei Schafblutagarplatten (LGL-OS) ausgebracht und dort mit Hilfe eines Drygalski-Spatels ausgespatelt. Eine Platte wurde anaerob, die andere aerob bebrütet.

Anzucht:

Anaerobier-Anzucht:

Die Blutplatten zur Anaerobieranzucht wurden in einen Anaerobiertopf (Fa. Oxoid Ltd., Basinkstoke, England) verbracht, in dem durch AnaeroGen® ein anaerobes Milieu geschaffen wurde. Die Bebrütungsdauer für die Anaerobier betrug durchschnittlich 4 Tage, die Bebrütungstemperatur 37° C.

Aerobier-Anzucht:

Die Blutplatten zur Aerobieranzucht wurden im Brutraum durchschnittlich 2 Tage bei 37°C bebrütet.

Die auf den Blutplatten gewachsene Mischflora wurde photographisch festgehalten (Abbildung 10 und Abbildung 11).



Abbildung 10: Katze 1, Versuch 1, Ausstrich der Tupfer-Suspension auf Blutagar nach 48 Stunden aerober Bebrütung bei 37°C; Entnahmezeitpunkt Tag 0

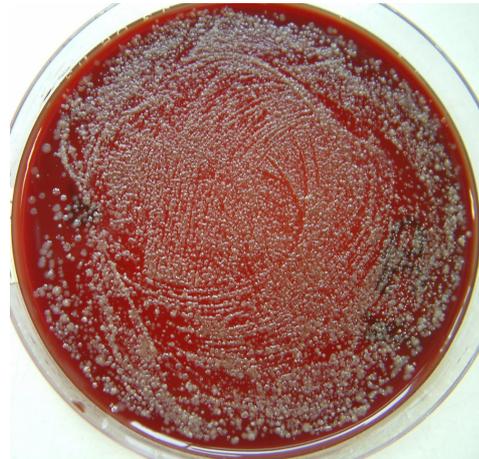


Abbildung 11: Katze 1, Versuch I, Ausstrich der Tupfer-Suspension auf Blutagar nach 48 Stunden aerober Bebrütung bei 37°C; Entnahmezeitpunkt Tag 28

Anschließend wurden die verschiedenen Stämme der Mischkulturen einzeln mit abgeflamten Metallösen und -nadeln von der Platte abgenommen und auf Schafblutagarplatten subkultiviert. Um dies zu erleichtern, wurde die Tupfer-Suspension bei einem Großteil der Proben weiter verdünnt. Aus der Tupfer-Suspension wurde mittels einer

Einmal-Öse eine Menge von 10 µl entnommen und in 2 ml sterile 0,9%ige NaCl-Lösung verbracht. Mit dieser Verdünnung wurde genauso verfahren wie mit der ursprünglichen Tupfer-Suspension. Durch die geringere Bewuchsstärke ließen sich Einzelstämme von diesen Platten leichter isolieren.

Stämme von aerob bebrüteten Platten wurden nur aerob bebrütet, Stämme von anaerob bebrüteten Platten wurden auf eine aerobe und eine anaerobe Platte ausgebracht. Die Anzucht erfolgte unter denselben Bedingungen wie oben beschrieben.

In manchen Fällen gelang es nicht, auf Anhieb Reinkulturen zu erhalten; es wurden dann weitere Subkultivierungen nötig.

Von den Reinkulturen wurde jeweils ein Gram-Präparat angefertigt. Die Stämme wurden anschließend entweder sofort biochemisch ausdifferenziert oder bei -80°C in einem Konservierungssystem zwischengelagert (Mikrobank System, Fa. Pro-Lab Diagnostics, Canada / Cryobank™, Fa. Mast Diagnostica, Reinfeld) und zu einem späteren Zeitpunkt weiter differenziert.

3.5.1.2 Differenzierung der Einzelstämme

Zur Ausdifferenzierung wurden die frischen Reinkulturen verwendet oder die Stämme aus den Konservierungssystemen rekultiviert.

Die Keimbestimmung wurde anhand verschiedener Untersuchungskriterien vorgenommen.

Makromorphologie:

Betrachtung des Wachstums des Stammes auf Blutagar (aerob, anaerob, schwaches Wachstum, kräftiges Wachstum), Beurteilung von Koloniegröße, -form, -farbe, Konsistenz, Textur, Randstrukturen und Geruch.

Lichtmikroskopie:

Betrachtung eines nach GRAM¹ gefärbten Ausstriches unter dem Lichtmikroskop (Leitz Laborlux 12, E. Leitz, Wetzlar) mit Ölimmersion, bei 1000fache Vergrößerung. Beurteilung der Anfärbbarkeit nach GRAM (grampositiv (blau), gramnegativ (rot)) und der

¹ Färbung nach GRAM:

1. Ausstrich lufttrocknen lassen und hitzefixieren
2. Vollständig mit Gentianaviolett bedecken, 2 Minuten färben, Farbstoff abschütteln
3. Vollständig mit Lugolscher Lösung bedecken, 2 Minuten färben, Farbstoff abschütteln
4. Mit Leitungswasser abspülen
5. Mit Alkohol entfärben
6. Mit Leitungswasser abspülen
7. Mit wässrigem Fuchsin nachfärben, 1 Minute

Bakterienmorphologie (Stäbchen, Kokken, Lage der Grundform zueinander, Ausbildung von Sporen).

Biochemie:

Untersuchung des Stammes auf Vorhandensein von Katalase und Oxidase. Anhand dieser Ergebnisse und unter Einbeziehung der Gramfärbung und der Makromorphologie wurde ein entsprechendes biochemisches Differenzierungssystem der Marke api® (Fa. bioMérieux sa, Marcy l'Etoile, Frankreich) ausgewählt. Die verwendeten api®-Systeme sind in Tabelle 24 aufgelistet. Die Bearbeitung der Proben, das Einpipettieren in die api®-Systeme und das Ablesen der Reaktionen erfolgte wie in den Anleitungen für das jeweilige System beschrieben.

Zur Auswertung wurden die Ergebnisse des jeweiligen api®-Systems in ein Computer-Programm (APILAB®, Fa. bioMérieux sa, Marcy l'Etoile, Frankreich) eingegeben.

Tabelle 24: Verwendete api®-Systeme

api Staph 32®	api NH®
api Strep®	api E®
api Coryne®	api NE®
api 50 CHL®	api A®

Sequenzierung:

Bei einer repräsentativen Menge von Proben bestimmter Stämme wurde zur Verifizierung der biochemischen Differenzierungsmethoden eine Sequenzierung mittels PCR durchgeführt. Die Sequenzierung wurde durch das LGL-OS vorgenommen.

3.5.1.2.1 In-vitro-Untersuchung der antibakteriellen Aktivität von Lactoferrin und (-)-Epigallocatechingallat

3.5.1.2.1.1 In-vitro-Untersuchung der antibakteriellen Aktivität von Lactoferrin

Vorversuche:

- a) Aufbringen eines Tropfens einer Lactoferrin-Lösung (200mg/2000µl) auf eine Blutagarplatte, Bebrütung der Platte 48 Stunden bei 37°C und anschließende Dokumentation der Veränderung des Nährbodens.

- b) Aufbringen eines Tropfens einer Lactoferrin-Lösung (200mg/2000 μ l,) auf eine mit 10 μ l aus einer Tupfer-Suspension der Versuchskatzen bestrichene Blutagarplatte. Bebrütung der Platte 48 Stunden bei 37°C und anschließende Beurteilung des Bakterienwachstums.

Da keine Hemmwirkung des Lactoferrin feststellbar war, wurde auf weitere Versuche mit Blutagarplatten verzichtet.

- c) Aufbringen eines Tropfens einer Lactoferrin-Lösung (200mg/2000 μ l) auf zwei mit Tupfer-Suspension einer Versuchskatze bestrichene Müller-Hinton-Platten (LGL-OS). Bebrütung der Platten 72 Stunden bei 37°C. Eine Platte wurde unter anaeroben, die andere unter aeroben Bedingungen bebrütet. Um die aerobe Platte vor Austrocknung zu schützen wurde sie in einer feuchten Kammer gelagert. Nach der Bebrütung Beurteilung des Bakterienwachstums und eventueller Nährbodenveränderungen

Hauptversuch:

Verschiedenen Mengen von LF wurden in sterilem aqua dest. gelöst. Um die Löslichkeit zu verbessern, wurde das aqua dest. auf 40°C erwärmt.

Es wurde LF-Lösung in den folgenden Konzentrationen hergestellt: 10%ig, 1%ig, 0,01%ig.

Jeweils zwei Platten pro Verdünnungsstufe wurden mittels sterilem Tupfer mit der Tupfer-Suspension einer der Versuchskatzen bestrichen. Aus den so vorbereiteten Platten wurden mit sterilen Reagenzgläsern Löcher mit einem Durchmesser von 1 cm ausgestanzt. Von jeder Verdünnungsstufe wurden jeweils 100 μ l in die ausgestanzten Löcher in den Müller-Hinton-Platten eingebracht. Anschließend wurden die Platten aerob sowie anaerob bebrütet.

Zur Kontrolle wurde jeweils eine Platte nur mit Bakterien bestrichen, ausgestanzt und ebenfalls aerob und anaerob bebrütet (siehe Tabelle 25).

Tabelle 25: Hemmstofftest Lactoferrin (LF) auf Müller-Hinton-Agar

Verwendete LF-Lösung	LF-Menge (mg/100µl)	Herkunft der Bakterien	Bebrütung der Platten
Kontrolle	0	Tupfer Suspension	aerob
			anaerob
Stammlösung (100 mg LF / 1000 µl)	10	Tupfer Suspension	aerob
			anaerob
Verdünnung 1:10	1	Tupfer Suspension	aerob
			anaerob
Verdünnung 1:1000	0,01	Tupfer Suspension	aerob
			anaerob

Das Wachstumsverhalten der Bakterien und die Veränderungen des Nährbodens wurden beschrieben sowie photographisch festgehalten.

3.5.1.2.1.2 In-vitro-Untersuchung der antibakteriellen Aktivität von (-)-Epigallocatechingallat

Vorversuche:

- a) Aufbringen eines Tropfens einer EGCG-Lösung (260 mg/2000 µl a.d) auf eine Blutagarplatte, aerobe Bebrütung der Platte für 24 Stunden bei 37°C. Dokumentation der Ergebnisse (Veränderung des Nährbodens durch EGCG) und Herstellung eines Quetschpräparates aus dem veränderten Nährboden. Untersuchung unter dem Lichtmikroskop (Leitz Laborlux 12, E. Leitz, Wetzlar) mit verschiedenen Vergrößerungen.
- b) Aufbringen je eines Tropfens einer EGCG-Lösung (260 mg/2000 µl a.d) auf zwei zuvor mit 10 µl aus der Tupfer-Suspension einer der Versuchskatzen bestrichene Blutagarplatten. Bebrütung einer Blutplatte unter anaeroben Bedingungen und einer unter aeroben Bedingungen (siehe 3.5.1.1). Beurteilung der wachstumshemmenden Wirkung der EGCG-Lösung.

Hauptversuch:

26 mg EGCG-Pulver wurden in 2000 µl aqua dest. gelöst. Von dieser Lösung wurden drei Verdünnungsstufen (1:10, 1:100, 1:1000) mit aqua dest. hergestellt.

Pro Verdünnungsstufe wurden vier Platten beimpft. Jeweils zwei Platten wurden mittels sterilem Tupfer mit der Tupfer-Suspension einer der Versuchskatzen bestrichen, zwei weitere Platten mit Rosenow-Bouillon derselben Katze. Aus den so vorbereiteten Platten wurden mit sterilen Reagenzgläsern Löcher mit einem Durchmesser von 1 cm ausgestanzt. Von jeder Verdünnungsstufe wurden je 100 µl in die ausgestanzten Löcher in den Blutagarplatten eingebracht. Anschließend wurden die Platten aerob sowie anaerob bebrütet.

Zur Kontrolle wurde jeweils eine Platte nur mit Tupfer-Suspension bzw. Rosenow-Bouillon bestrichen, ausgestanzt und ebenfalls aerob und anaerob bebrütet (siehe Tabelle 26).

Tabelle 26: Hemmstofftest (-)-Epigallocatechingallat (EGCG) auf Blutagar

Verwendete EGCG-Lösung	EGCG-Menge (mg/100µl)	Herkunft der Bakterien	Bebrütung der Platten
Kontrolle	0	Rosenow-Bouillon	aerob
			anaerob
		Tupfer Suspension	aerob
			anaerob
Stammlösung (260 mg EGCG/ 2000 µl)	13	Rosenow-Bouillon	aerob
			anaerob
		Tupfer Suspension	aerob
			anaerob
Verdünnung 1:10	1,3	Rosenow-Bouillon	aerob
			anaerob
		Tupfer Suspension	aerob
			anaerob
Verdünnung 1:100	0,13	Rosenow-Bouillon	aerob
			anaerob
		Tupfer Suspension	aerob
			anaerob
Verdünnung 1:1000	0,013	Rosenow-Bouillon	aerob
			anaerob
		Tupfer Suspension	aerob
			anaerob

Das Wachstumsverhalten der Bakterien und die Veränderungen des Nährbodens wurden beschrieben sowie photographisch festgehalten.

3.5.2 Bestimmung des antioxidativen Status

Als Nebenzielgröße wurde der Einfluss von LF und EGCG auf den antioxidativen Status der Katzen untersucht. Um den antioxidativen Status zu erfassen, wurden die folgenden Analysen durchgeführt: Bestimmung der Vitamin C- und E-Konzentration im Serum, Bestimmung der TEAC, Bestimmung der Enzyme Creatin-Kinase und Aspartat-Aminotransferase.

3.5.2.1 Bestimmung der Vitamin C-Konzentration im Serum

Prinzip:

Die Bestimmung des Vitamin C-Gehaltes der stabilisierten Serumproben erfolgte mittels High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

Herstellung eines Vitamin C-Standards:

Zur Herstellung eines Standards wurde 1 g Vitamin C in 10 ml einer 5%igen meta-Phosphorsäure-Lösung gelöst. Diese Lösung wurde mit meta-Phosphorsäure-Lösung bis zum Erhalt einer 1%igen Lösung weiter verdünnt.

Probenvorbereitung:

Die 1:1 (v/v) mit 5%iger meta-Phosphorsäure-Lösung versetzten Serumproben wurden aufgetaut und bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert. Zur restlosen Entfernung der noch vorhandenen Proteine wurde der Überstand 1:1 (v/v) mit Acetonitril versetzt und die Probe abermals zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und pro Probe zwei Aliquots für die HPLC-Analyse entnommen (Doppelbestimmung).

HPLC-Analytik:

Elutionsmittel:	Acetonitril (1:1, v/v)
Detektor:	Shimadzu SPDA 10 A, (Shimadzu, Oberhaching/München)
Pumpe und Steuergerät:	Waters 510 Solvent Delivery System und Waters Automated Gradient Controller, (Waters Millipore S.A., Frankreich)
Probengeber:	Shimadzu SIL 10 AD mit integrierter Probenkühlung, (Shimadzu, Oberhaching/München)

Chromatographiesäule: Grom-Sil 120 Amino-2 PA (5 μm) 250 x 4 mm, (Grom Analytik, Herrenberg)

Auswertung der HPLC-Ergebnisse:

Die Auswertung der Proben und des Standards erfolgte mit einer Chromatographie-Software (Chromatography Laboratory Automated Software System „Class-vp 2.1“ mit Computer Pentium I 90, 128 MB RAM, Shimadzu, Oberhaching/München). Die Vitamin C-Peaks des Standards und der Proben wurden integriert und die Flächen berechnet. Da die Peakfläche der Vitamin C-Konzentration proportional ist, konnten anhand der Flächen des Standards mit bekannter Konzentration die Vitamin C-Konzentrationen der Proben berechnet werden.

Reagenzien:

Meta-Phosphorsäure: p.a., (Merck KGaA, Darmstadt), 5%ige Lösung in Aqua dest.

Vitamin C: L(+)-Ascorbic acid (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim)

3.5.2.2 Bestimmung der Vitamin E-Konzentration im Serum

Prinzip:

Der Gehalt der Serumproben an Vitamin E wurde mittels High Performance Liquid Chromatography (HPLC) mit Fluoreszenzdetektor in Anlehnung an die Methode nach VUILLEUMIER et al. (1983) bestimmt.

Methode:

Herstellung eines Vitamin E-Standards:

Ein Tropfen α -Tocopherol wurde in Methanol gelöst und die Extinktion der Lösung bei 295 nm photometrisch gemessen.

Daraus war die Berechnung der molaren Konzentration der Standardlösung mit Hilfe des Extinktionskoeffizienten (75,8) und des Molekulargewichtes (430,69 g/mol) von α -Tocopherol möglich.

Probenvorbereitung:

100 µl Serum wurden in Glaszentrifugenröhrchen mit 100 µl Aqua dest. verdünnt. Durch Zugabe von 375 µl 96%igem Ethanol und Schütteln auf einem Vortex-Mixer (Bender & Hobein AG, Schweiz) wurde die Ausfällung der Proteine erreicht. Zur Extraktion des Vitamin E wurden 500 µl n-Hexan zugegeben, erneut mit Hilfe des Vortex-Mixers gemischt und anschließend mit 3000 U/min 5 Minuten zentrifugiert. Nach Abpipettieren des Überstandes in ein zweites Glasröhrchen wurde die Extraktion nach dem gleichen Schema wiederholt. Der Überstand der zweiten Extraktion wurde mit dem der ersten Extraktion vereinigt und unter Stickstoffzufluß im warmen Wasserbad bis zur Trockene abgedampft. Der Rückstand wurde mit 100 µl einer Methanol-Ethanol-Mischung (80:20, v/v) aufgenommen. Davon wurde ein Aliquot von 75 µl in ein HPLC-Fläschchen überführt und bis zur Analytik bei -20°C gelagert. Bei allen Proben wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt.

HPLC-Analytik:

Elutionsmittel:	Methanol
Fluoreszenzdetektor:	Jasco FP 920 Spectrofluorometric Detector (Jasco Inc, Easton ,MD, USA) Extinktion von 295 nm, Emission von 330 nm
Pumpe und Steuergerät:	Waters 510 Solvent Delivery System und Waters Automated Gradient Controller, (Waters Millipore S.A., Frankreich)
Probengeber:	Shimadzu SIL 10 AD mit integrierter Probenkühlung, (Shimadzu, Oberhaching/München)
Chromatographiesäule:	Lichsorb SI-60 (5µm) 125 x 4 mm, (Grom Analytik, Herrenberg)

Auswertung der HPLC-Ergebnisse:

Die Auswertung der Proben und des Standards erfolgte mit einer Chromatographie-Software (Chromatography Laboratory Automated Software System „Class-vp 2.1“ mit Computer Pentium I 90, 128 MB RAM, Shimadzu, Oberhaching/München).

Die Vitamin E-Peaks von Standard und Probe wurden integriert und die Flächen berechnet. Da die Peakfläche der Vitamin E-Konzentration proportional ist, wurden über die Fläche des Standards und seiner bekannten molaren Konzentration die Vitamin E-Konzentrationen der Proben berechnet.

Reagenzien:

α -Tocopherol (Sigma Chemical Co, St. Louis, USA)

n-Hexan für Flüssigkeitschromatographie (Merck KGaA, Darmstadt, Art.-Nr. 104391)

Methanol für Flüssigkeitschromatographie (Merck KGaA, Darmstadt, Art.-Nr. 106007)

Ethanol für Flüssigkeitschromatographie (Merck KGaA, Darmstadt, Art.-Nr.: 111727)

3.5.2.3 Bestimmung der Trolox equivalent antioxidant capacity im Serum

Prinzip:

Die Bestimmung der TEAC erfolgte nach MILLER et al. (1993) photometrisch.

Die TEAC ist definiert als Konzentration von Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure) in mmol/l, die eine gleichwertige antioxidative Kapazität wie eine 1,0 mmol/l Lösung der zu untersuchenden Substanz (hier Serum) besitzt.

Methode:Herstellung eines Standards:

Als Standard wurde Trolox verwendet. Mit PBS-Puffer wurde eine 2,5 mM-Troloxlösung als Stamm-Standard hergestellt (Lösung der Kristalle im Ultraschallbad). Daraus Herstellung von sechs Verdünnungsstufen mittels PBS-Puffer: 2,5 mM, 2,0 mM, 1,5 mM, 1,0 mM, 0,5 mM, 0 mM. Die Erstellung der Kalibrierkurve erfolgte durch Messung dieser Standards bei Raumtemperatur bei 734 nm im Photometer (GenesysTM 10 Series, Thermo Spectronic, Rochester, USA).

Messung des Standards zur Erstellung einer Kalibrierkurve:

Vor der Messung des Standards wurde am Photometer bei einer Wellenlänge von 734 nm der Nullwert mit PBS-Pufferlösung abgeglichen.

Von jeder der sechs Verdünnungsstufen wurden 10 μ l in Mikroküvetten pipettiert und jeweils 990 μ l ABTS⁺⁺-Lösung (siehe Reagenzien) zugegeben. Nach kurzem Schütteln wurde die Extinktion nach genau einer Minute bei 734 nm im Photometer gemessen. Es wurden Doppelmessungen durchgeführt.

Nach Ermittlung der Extinktionsmittelwerte aus den Doppelmessungen der Standardlösungen wurde die TAA (Total Antioxidant Activity) der Verdünnungen nach folgender Formel berechnet:

$$TAA_{\text{Standard}} = (\text{Extinktion}_{\text{Nullwert}} - \text{Extinktion}_{\text{Standard}}) / \text{Extinktion}_{\text{Nullwert}}$$

An Hand dieser Werte wurde ein Diagramm erstellt. Auf der x-Achse wurde die Troloxkonzentration, auf der y-Achse die zugehörige berechnete TAA aufgetragen (Abbildung 12).

Mit Hilfe eines Tabellenkalkulationsprogrammes (Microsoft®, Excel 2000) wurde die Kalibrierkurve erstellt und daraus ihre Geradengleichung berechnet.

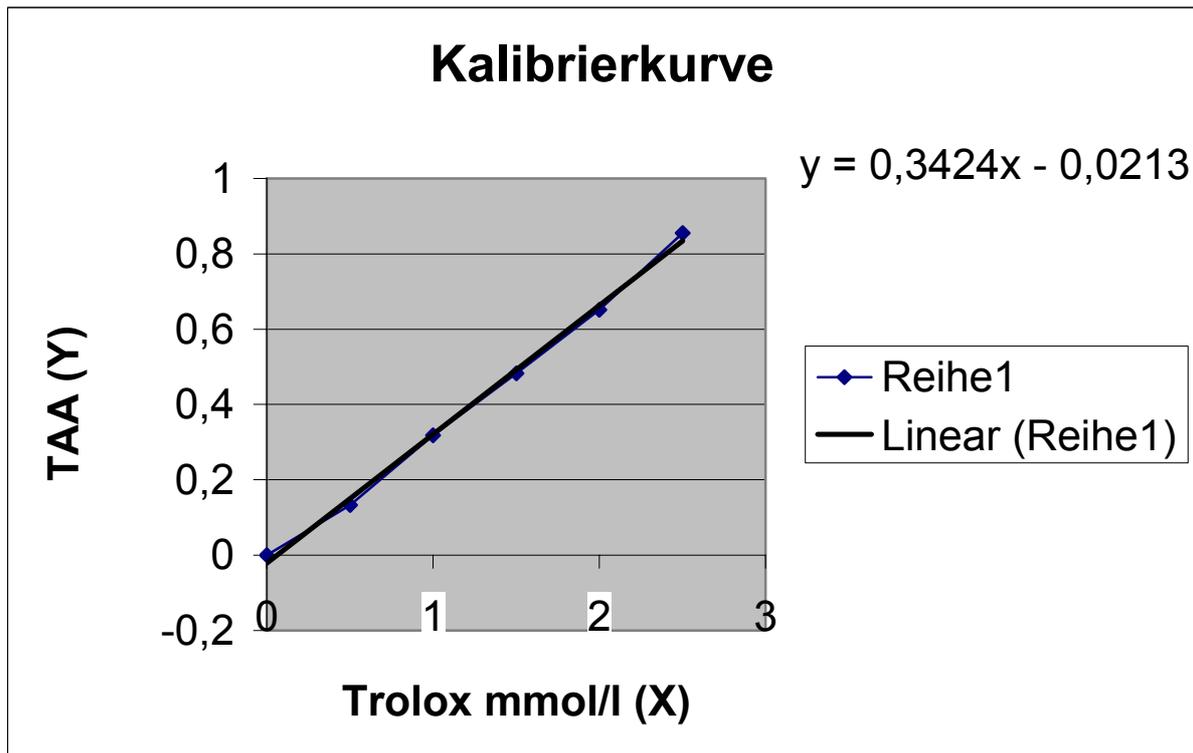


Abbildung 12: Kalibrierkurve für die TEAC-Berechnung

TAA: Total antioxidant capacity

Formel der Kalibrierkurve: $y = 0,3424 x - 0,0213$

Messung der Proben:

Bei jeder Probe wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. In eine Mikroküvette wurden 10 µl Serum und 990 µl ABTS⁺-Lösung pipettiert, kurz geschüttelt und nach genau einer Minute die Extinktion bei 734 nm abgelesen.

Berechnung der TEAC:

Aus den Doppelwerten der Probenmessungen wurden wie bei den Standards die Extinktionsmittelwerte berechnet und die TAA der einzelnen Proben bestimmt:

$$TAA_{\text{Probe}} = (\text{Extinktion}_{\text{Nullwert}} - \text{Extinktion}_{\text{Probe}}) / \text{Extinktion}_{\text{Nullwert}}$$

Anschließend wurde die Formel der Kalibrierkurve nach x aufgelöst und durch Einsetzen des jeweiligen Werts TAA_{Probe} die $TEAC_{\text{Probe}}$ berechnet:

Gleichung der Kalibrierkurve und Auflösung nach x:

$$Y (TAA) = 0,3424 X (TEAC) - 0,0213$$

$$X (TEAC) = (Y (TAA) + 0,0213) / 0,3424$$

$$TEAC_{\text{Probe}} (\text{mmol/l}) = (TAA_{\text{probe}} + 0,0213) / 0,3424$$

Reagenzien:

ABTS ⁺ -Lösung:	Herstellung der 5mM ABTS-Stammlösung aus 2,2-Azino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) und PBS-Puffer. Übergießen von MnO ₂ (Mangangese Dioxide, Activated, Fa. Sigma) mit der ABTS-Stammlösung mittels eines Whatman No. 5-Filterpapiers. Dabei entsteht das radikale ABTS-Kation. Entfernung des überschüssigen MnO ₂ durch Filtration (0,2 µm Whatman PVDF syringe filter). Verdünnung der ABTS ⁺ -Lösung mit PBS-Puffer, bis eine Extinktion von 0,700 +/-0,002 bei 734 nm erreicht ist.
PBS-Puffer:	5mM, pH 7,4
Trolox:	6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure, Sigma-Aldrich, Steinheim

3.5.2.4 Bestimmung der Enzyme Creatin-Kinase und Aspartat-Aminotransferase im Serum

Beide Enzyme wurden im Labor der 1.Medizinischen Tierklinik aus Serum bestimmt.

Die Analysen erfolgten durch einen klinisch-chemischen Analysenautomaten (Hitachi 911, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim).

In den Probeneteller wurden Kunststoffprobengefäße mit den aufgetauten Katzen-Seren eingelegt. Der automatische Probennehmer des Gerätes entnimmt eine definierte Probenmenge und füllt sie in eine Küvette. Nach Zugabe zweier Reagenzien (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) wird eine photometrische Messung durchgeführt.

Messung der Creatin-Kinase (CK)

Sie beruht auf folgender Reaktion:



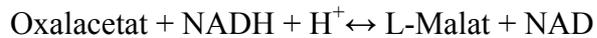
Bezogen auf äquimolare Mengen verläuft die Bildung von NADPH und Creatin mit der gleichen Geschwindigkeit. Die Geschwindigkeit der photometrisch gemessenen NADPH-Bildung ist der CK-Aktivität proportional. Die CK-Aktivität wird automatisch berechnet.

Reagenz R1: Puffer, Coenzym, Enzyme

Reagenz R2: Puffer, Substrat

Messung der Aspartat-Aminotransferase (AST):

Sie beruht auf folgender Reaktion:



Die Geschwindigkeit der photometrisch gemessenen NADH-Abnahme ist direkt proportional der Bildungsgeschwindigkeit von Oxalacetat und somit der AST-Aktivität. Die AST-Aktivität wird automatisch berechnet.

Reagenz R1: Puffer, Coenzym, Enzyme

Reagenz R2: alpha-Ketoglutarat

3.5.3 Bestimmung des (-)-Epigallocatechingallat-Plasmaspiegels

Der EGCG-Plasmaspiegel wurde mittels Flüssigkeitschromatographie/Massenspektrometrie (LC/MS) mit negativer Elektrospray-Ionisierung bei der Firma DSM Nutritional Products (ehemals Roche-Vitamins), Kaiseraugst (Schweiz) bestimmt. Das Quantifikationslimit bei dieser Analyse liegt bei 5 ng/ml.

3.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der in den Versuchen gewonnenen Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SigmaStat 3.0. Es wurden jeweils der Mittelwert (MW) zur Zusammenfassung der Einzelwerte und die Standardabweichung (Stabw.) zur Erfassung der Streuung der Einzelwerte berechnet.

Zwischen den Tieren einer Gruppe wurden keine statistischen Auswertungen vorgenommen.

Die Stichprobenanzahl (n) betrug jeweils 9 pro Gruppe. Die Vergleichsuntersuchung auf Unterschiede zwischen den einzelnen Messungen bzw. zwischen den Gruppen erfolgte mit Hilfe des nicht-parametrischen U-Tests nach Mann-Whitney. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

4 Ergebnisse

Die Ergebnisse der Blutanalysen, die vor Versuchsbeginn zur Überprüfung des Gesundheitszustandes und der Narkosefähigkeit durchgeführt wurden, sind für die einzelnen Katzen im Anhang aufgeführt. Die Ergebnisse der abschließenden Untersuchung der Leberenzyme ALT, AST und GLDH an Tag 28 des II. Versuches sind der Dissertation von ELSBETT (2004) zu entnehmen.

4.1 Versuch I (Wirkstoff Lactoferrin)

4.1.1 Allgemeinzustand und Gewichtsentwicklung

Das Allgemeinbefinden der Katzen war vor dem Versuchsbeginn und während des gesamten Versuchszeitraumes ungestört. Eine Katze (Kontrollgruppe, männlich, 2 Jahre alt), zeigte schon vor Versuchsbeginn und über die Dauer des Versuches hinweg aufgrund einer konservativ nicht zu behebenden Verlegung des Tränennasenkanals Epiphora am rechten Auge. Dieses Auge war aufgrund der stärkeren Sekretansammlung oft gerötet und entzündet, so dass von Tag 14 bis 20 des Versuches I eine antibiotikahaltige Augensalbe verabreicht werden musste.

Die Bestimmung der Körpergewichte erfolgte jeweils vor der Anästhesie an Tag 0 und Tag 28. Wie aus der Tabelle 27 ersichtlich ist, blieben die mittleren Körpergewichte der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe zwischen Tag 0 und Tag 28 nahezu identisch, es konnten keine signifikanten Unterschiede in der Gewichtsentwicklung festgestellt werden.

Tabelle 27: Mittleres Körpergewicht in kg (MW±Stabw.) der Katzen der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Parameter	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
Gewicht (in kg)	3,67 ±0,97	3,75 ±1,05	3,96 ±0,89	4,07 ±0,85

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.1.2 Blutbilder

Zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 wurde nach Narkoseeintritt von allen Katzen Blut gewonnen. Neben der Bestimmung der Parameter für den Antioxidativen Status wurde aus den Blutproben eine Analyse des roten und weißen Blutbildes für jede Katze durchgeführt. Referenzbereiche, auf die Bezug genommen wird, stammen von KRAFT UND DÜRR (1997).

4.1.2.1 Rotes Blutbild

Alle Mittelwerte der Parameter des roten Blutbildes liegen zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 im Referenzbereich für Katzen. Wie aus der Tabelle 28 zu entnehmen ist, können an den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 zwischen der Kontroll- und der Lactoferringruppe keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, die Mittelwerte bleiben während der Versuchsdauer nahezu identisch.

Tabelle 28: Mittlere Erythrozytenanzahl ($\times 10^{12}/l$), mittlerer Hämatokrit (%), mittlerer Hämoglobingehalt (mmol/l) und mittlere Erythrozytenindices (MCV in fL, MCH in fmol, MCHC in mmol/l) \pm Stabw. der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Rotes Blutbild	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
Erythrozytenzahl	8,73 \pm 1,33	8,31 \pm 1,64	8,39 \pm 1,47	8,42 \pm 0,82
Hämatokrit	37,87 \pm 4,50	34,49 \pm 5,66	36,99 \pm 4,90	37,41 \pm 3,99
Hämoglobin	7,62 \pm 0,79	7,26 \pm 1,33	7,59 \pm 0,96	7,56 \pm 0,71
MCV	43,53 \pm 1,93	42,59 \pm 2,45	44,39 \pm 2,70	44,22 \pm 2,02
MCHC	20,17 \pm 0,46	20,56 \pm 1,23	20,53 \pm 0,50	20,34 \pm 0,85
MCH	0,88 \pm 0,04	0,87 \pm 0,04	0,91 \pm 0,05	0,90 \pm 0,04

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.1.2.2 Weißes Blutbild

Das vollständige weiße Blutbild (Tabelle 29) setzt sich aus der Leukozytenzahl und dem Differentialblutbild mit der Angabe der verschiedenen Blutzellen in Prozent der Gesamtleukozytenzahl und in absoluten Zahlen ($\times 10^9/l$) zusammen.

Die Mittelwerte der Leukozytenzahlen liegen bei beiden Gruppen zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 im Referenzbereich. Weder in der Kontrollgruppe noch in der Lactoferringruppe ist ein statistisch signifikanter Anstieg oder Abfall zwischen den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 erkennbar.

Die Mittelwerte der absoluten Anzahl der neutrophilen Granulozyten liegen in beiden Gruppen zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 im Referenzbereich. Weder bei der Kontrollgruppe noch bei der Lactoferringruppe ist ein statistisch signifikanter Anstieg oder Abfall zwischen den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 sichtbar. In beiden Gruppen ist die Anzahl der neutrophilen Granulozyten zum Zeitpunkt Tag 28 jedoch tendenziell niedriger (durchschnittlich um 24%) als zum Zeitpunkt Tag 0. Der Anteil der neutrophilen Granulozyten an der Gesamtzahl der Leukozyten liegt in beiden Gruppen sowohl an Tag 0 als auch an Tag 28 um bis zu 18,9%-Punkte unter dem Referenzbereich. In der Kontrollgruppe sind die Werte von Tag 0 und Tag 28 nahezu identisch. In der Lactoferringruppe ist eine Senkung um 27% von Tag 0 auf Tag 28 sichtbar, diese ist jedoch nicht statistisch signifikant.

Die Mittelwerte der Lymphozytenzahlen liegen in beiden Gruppen sowohl an Tag 0 als auch an Tag 28 im Referenzbereich. Weder bei der Kontrollgruppe noch bei der Lactoferringruppe, ist ein statistisch signifikanter Anstieg oder Abfall zwischen Tag 0 und Tag 28 sichtbar. Der Anteil der Lymphozyten an der Gesamtzahl der Leukozyten liegt ebenfalls in beiden Gruppen zu beiden Messzeitpunkten im Referenzbereich. Auch hier sind keine statistisch signifikanten Veränderungen der Werte zwischen Tag 0 und Tag 28 sichtbar. Die Mittelwerte der einzelnen Gruppen zu den zwei Zeitpunkten sind nahezu identisch.

In der Lactoferringruppe ist die mittlere Anzahl der Monozyten an Tag 28 um mehr als das dreifache der oberen Grenze des Referenzbereiches erhöht ($1,52 \pm 2,24 \times 10^9/l$). Zum Zeitpunkt Tag 0 ist die absolute Anzahl der Monozyten in beiden Gruppen durchschnittlich um 19 % erhöht. Weder in der Kontrollgruppe noch in der Lactoferringruppe ist ein statistisch signifikanter Anstieg oder Abfall zwischen Tag 0 und Tag 28 sichtbar. Der Anteil der Monozyten an der Gesamtzahl der Leukozyten liegt in der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe an beiden Blutentnahmezeitpunkten über dem Referenzbereich. An Tag 28 liegt er bei der Lactoferringruppe um das 4,5 fache über der oberen Grenze des Referenzbereiches ($18,90 \pm 26,32$ %), die Werte der Kontrollgruppe an beiden Zeitpunkten und der

Wert der Lactoferringruppe zum Zeitpunkt 0 liegen mit durchschnittlichen Werten von 6,1 % um 52 % über dem Referenzbereich.

Die mittlere Anzahl der eosinophilen Granulozyten liegt sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Lactoferringruppe an den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 um durchschnittlich 37 % über dem Referenzbereich. In der Kontrollgruppe fallen die eosinophilen Granulozyten zwischen Tag 0 und Tag 28 um 20% ab, in der Lactoferringruppe steigen sie um 32% an. Weder in der Kontrollgruppe noch in der Lactoferringruppe sind die Veränderungen zwischen Tag 0 und Tag 28 statistisch signifikant. Der Anteil der eosinophilen Granulozyten an der Gesamtleukozytenzahl liegt ebenfalls in beiden Gruppen an den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 über dem Referenzbereich. Die Werte für die Kontrollgruppe unterscheiden sich zwischen Tag 0 und 28 kaum (0,41%-Punkte), in der Lactoferringruppe ist ein nicht signifikanter Anstieg der Werte von $7,49 \pm 3,72$ % auf $10,34 \pm 9,33$ % sichtbar.

Die mittlere Anzahl der basophilen Granulozyten der Lactoferringruppe liegt zu beiden Zeitpunkten im Referenzbereich, in der Kontrollgruppe liegt sie zum Zeitpunkt Tag 28 um 25% darüber. In beiden Gruppen ist tendenziell ein Anstieg der basophilen Granulozyten von Tag 0 auf Tag 28 erkennbar, in der Kontrollgruppe um 66% und in der Lactoferringruppe um 100%. Weder in der Kontrollgruppe noch in der Lactoferringruppe ist der Anstieg zwischen Tag 0 und Tag 28 statistisch signifikant. Der Anteil der basophilen Granulozyten an der Gesamtleukozytenzahl liegt ebenfalls in beiden Gruppen zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 im Referenzbereich. In keiner der beiden Gruppen sind statistisch signifikante Veränderungen der Werte zwischen Tag 0 und Tag 28 sichtbar.

Tabelle 29: Leukozytenanzahl und Differentialblutbild der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I).

Weißes Blutbild	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
Leukozytenzahl (x 10 ⁹ /l)	10,79 ±3,19	8,52 ±2,44	8,75 ±3,11	8,81 ±2,17
Neut. Granuloz. relativ (%)	56,19 ±11,01	55,31 ±8,34	56,77 ±13,77	41,13 ±25,86
Neut. Granuloz abs. (x 10 ⁹ /l)	5,96 ±1,53	4,73 ±1,64	5,14 ±2,77	3,71 ±2,44
Lymphozyten relativ (%)	29,32 ±8,37	30,35 ±5,55	28,81 ±13,29	29,15 ±13,07
Lymphozyten abs. (x 10 ⁹ /l)	3,25 ±1,65	2,58 ±0,86	2,37 ±1,00	2,58 ±1,49
Monozyten Relativ (%)	5,94 ±1,64	5,66 ±1,29	6,72 ±2,60	18,90 ±26,32
Monozyten abs. (x 10 ⁹ /l)	0,62 ±0,18	0,48 ±0,18	0,57 ±0,28	1,52 ±2,24
Eos. Granuloz. relativ (%)	8,28 ±4,76	8,69 ±4,13	7,49 ±3,72	10,34 ±9,33
Eos. Granuloz. abs. (x 10 ⁹ /l)	0,93 ±0,67	0,74 ±0,36	0,65 ±0,37	0,96 ±1,05
Baso. Granuloz. relativ (%)	0,32 ±0,25	0,50 ±0,56	0,23 ±0,09	0,49 ±0,45
Baso. Granuloz. abs. (x 10 ⁹ /l)	0,03 ±0,03	0,05 ±0,05	0,02 ±0,01	0,04 ±0,03

*: signifikanter Unterschied (p<0,05) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe,
Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied (p<0,05) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

Abkürzungen: Neut. Granuloz = neutrophile Granulozyten, abs. =absolut,

Eos. Granuloz. = eosinophile Granulozyten, Baso. Granuloz. = basophile Granulozyten

Die zur Überwachung von Narkoseschäden untersuchten Serumwerte Harnstoff, Kreatinin und Fructosamin lagen innerhalb der Referenzbereiche, bzw. nur unbedeutend darüber oder darunter.

4.1.3 Maulhöhlenparameter

4.1.3.1 Halitose

Die Erfassung des Maulhöhlengeruchs (Halitose) der Katzen erfolgte durch die organoleptische Beurteilung und durch die Messung von flüchtigen Schwefelkomponenten mit dem Halimeter® (Tabelle 30).

Bei der organoleptischen Beurteilung der Halitose konnte in beiden Gruppen eine Verringerung der Werte um 0,11 (Kontrollgruppe) bzw. 0,12 (Lactoferringruppe) von Tag 0 zu Tag 28 festgestellt werden. Diese ist jedoch nicht statistisch signifikant.

Bei der Messung der Halitose mit dem Halimeter® wurde in beiden Gruppen ein Anstieg der Werte um 9,61 ppm (Kontrollgruppe) bzw. 28,89 ppm (Lactoferringruppe) von Zeitpunkt Tag 0 zu Tag 28 beobachtet. Der Anstieg in der Lactoferringruppe ist statistisch signifikant. Die Differenz der Werte der Halimeter®-Messung für Tag 0 und Tag 28 (Delta Tag 0 - Tag 28) ist in der Lactoferringruppe statistisch signifikant größer als in der Kontrollgruppe.

Tabelle 30: Mittlere Halitose-Werte der organoleptischen Messung (Grad 0-3) und der Messung mit dem Halimeter® (in ppm) von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Messung	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
Organoleptisch Grad 0-3	1,50 ± 0,79	1,39 ± 0,60	1,56 ± 0,88	1,44 ± 0,73
Halimeter® (ppm)	66,50 ± 17,23	76,11 ± 22,14	49,44 ± 10,25	78,33 ± 23,21 ^{#*}

*: signifikanter Unterschied (p<0,05) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied (p<0,05) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.1.3.2 Gingivitisindex

Zur Beurteilung des Entzündungsgrades des Zahnfleisches wurde der Gingivitisindex an 12 Zähnen pro Katze gemessen.

Wie aus der Tabelle 31 zu ersehen ist, zeigt der mittlere Gingivitisindex der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe zwischen Tag 0 und Tag 28 keine statistisch signifikante Veränderung. Tendenziell lässt sich aber eine Verminderung des Gingivitisindex in beiden

Gruppen (um durchschnittlich 6,5%) von Tag 0 zu Tag 28 feststellen. In der Lactoferringruppe war dieser Effekt am Mittelwert des linken oberen Prämolaren 4 (Zahn 108) statistisch signifikant.

Bei Betrachtung der Indices der verschiedenen Zähne kann in beiden Gruppen eine Tendenz zu niedrigem Gingivitisindex an den rechten und linken 4. Prämolaren und 1. Molaren des Unterkiefers (Zähne 308, 309; 408, 409) festgestellt werden.

Tabelle 31: Mittlerer Gingivitisindex GI ($\bar{x} \pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Zahn	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
204	1,00 ±0,43	0,89 ±0,28	1,02 ±0,44	1,15 ±0,24
207	1,02 ±0,29	0,98 ±0,38	0,96 ±0,55	0,72 ±0,26
208	1,11± 0,24	1,00± 0,34	1,07±0,43	0,89± 0,43
304	1,13 ±0,50	1,11 ±0,29	0,96± 0,48	1,11± 0,49
308	0,44 ±0,17	0,30± 0,22	0,33± 0,25	0,17± 0,25
309	0,56 ±0,17	0,54 ±0,27	0,56 ±0,40	0,54 ±0,49
104	1,28 ±0,51	1,13 ±0,33	0,93 ±0,48	0,89 ±0,22
107	0,83± 0,41	0,83± 0,22	0,57 ±0,17	0,63± 0,33
108	1,22± 0,33	0,91± 0,25	0,96 ±0,30	0,56± 0,39 [#]
404	0,93 ±0,26	0,93 ±0,31	0,89 ±0,43	1,19± 0,38
408	0,50± 0,25	0,31± 0,24	0,40 ±0,24	0,50±0,35
409	0,72 ±0,26	0,84 ±0,48	0,57 ±0,51	0,57± 0,30
Maulhöhle	0,89 ±0,14	0,81± 0,12	0,77 ±0,23	0,74 ±0,17

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.1.3.3 Sondierungstiefe

Die Sondierungstiefe (in mm) wird bestimmt, um die Tiefe des gingivalen Sulcus bzw. der entstandenen Zahnfleischtaschen auszumessen.

Die Tabelle 32 zeigt, dass die Mittelwerte der Sondierungstiefen aller beurteilten Zähne sowohl in der Lactoferrin- als auch in der Kontrollgruppe zwischen den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 nahezu identisch bleiben. Es ist keine statistisch signifikante Veränderung sichtbar. Lediglich an einem einzelnen Zahn (linker maxillarer Prämolare 4 (Zahn 208)) ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und Lactoferringruppe.

Bei Betrachtung der Sondierungstiefen der verschiedenen Zähne kann eine Tendenz zu geringer Sondierungstiefe an den rechten und linken 4. Prämolaren des Unterkiefers (Zähne 308; 408) festgestellt werden.

Tabelle 32: Mittlere Sondierungstiefe PD ($\bar{x} \pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle in mm von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Zahn	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
204	1,11 \pm 0,24	1,07 \pm 0,15	0,96 \pm 0,45	1,19 \pm 0,69
207	0,94 \pm 0,19	0,98 \pm 0,23	0,81 \pm 0,36	0,80 \pm 0,23
208	1,24 \pm 0,43	1,56 \pm 0,60	0,98 \pm 0,17	0,91 \pm 0,24*
304	1,63 \pm 1,23	1,85 \pm 0,84	1,63 \pm 0,86	1,87 \pm 1,09
308	0,70 \pm 0,23	0,54 \pm 0,45	0,69 \pm 0,34	0,83 \pm 0,29
309	1,02 \pm 0,26	0,89 \pm 0,36	0,78 \pm 0,38	0,83 \pm 0,33
104	1,68 \pm 1,16	1,85 \pm 1,18	1,30 \pm 0,66	1,37 \pm 0,77
107	1,05 \pm 0,17	1,09 \pm 0,19	0,89 \pm 0,19	1,02 \pm 0,19
108	1,46 \pm 0,49	1,35 \pm 0,45	1,07 \pm 0,15	1,22 \pm 0,24
404	1,20 \pm 0,39	1,31 \pm 0,88	1,37 \pm 0,65	1,54 \pm 1,22
408	0,39 \pm 0,34	0,24 \pm 0,21	0,50 \pm 0,36	0,41 \pm 0,29
409	0,94 \pm 0,09	0,68 \pm 0,30	0,96 \pm 0,52	0,83 \pm 0,17
Maulhöhle	1,12 \pm0,23	1,12 \pm0,27	0,99 \pm0,22	1,07 \pm0,29

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.1.3.4 Mobilitätsindex

Der Mobilitätsindex wird bestimmt um die Beweglichkeit des Zahnes im Zahnfach zu beurteilen. Der in Tabelle 33 dargestellte Mobilitätsindex war sowohl in der Lactoferrin- als auch in der Kontrollgruppe zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 nahezu null. Es konnte lediglich eine geringe Mobilität (Grad 1) an vereinzelt Zählen festgestellt werden. Statistisch signifikante Veränderungen der Mobilität zwischen den Messzeitpunkten sind in beiden Gruppen nicht erkennbar.

Tabelle 33: Mittlerer Mobilitätsindex MI ($\bar{x} \pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Zahn	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
204	0,00±0,00	0,22 ±0,67	0,00±0,00	0,00±0,00
207	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
208	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
304	0,11 ±0,33	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
308	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
309	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
104	0,00±0,00	0,11 ±0,33	0,00±0,00	0,11 ±0,33
107	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
108	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
404	0,00±0,00	0,11 ±0,33	0,00±0,00	0,00±0,00
408	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
409	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Maulhöhle	0,01 ±0,03	0,04 ±0,11	0,00±0,00	0,01 ±0,03

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.1.3.5 Furkationsindex

Der mittlere Furkationsindex der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe war in Versuch I zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 jeweils 0. Aus diesem Grund wird auf eine Darstellung der Werte für die einzelnen Zähne in tabellarischer Form verzichtet.

4.1.3.6 Plaqueindex

Der Plaqueindex wird zur Erfassung der Plaque-Neubildung nach der Zahnreinigung („clean tooth“-Modell) bestimmt. Wie aus der Tabelle 34 ersichtlich, war der Plaqueindex zum Zeitpunkt Tag 0 durch die vorangegangene Plaqueentfernung gleich 0 (Kontrolle durch Aufbringen von Mira-2-Ton-Lösung). Aus diesem Grund wurde auf eine statistische Untersuchung der Veränderungen innerhalb der Gruppen zwischen Tag 0 und Tag 28 verzichtet und stattdessen nur die Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt Tag 28 untersucht. Der Plaqueindex der Lactoferringruppe ist an Tag 28 tendenziell niedriger (um 5%) als der der Kontrollgruppe. Es ist jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied des Plaqueindex zwischen den Gruppen erkennbar.

Bei Betrachtung der Plaqueindices der verschiedenen Zähne kann eine Tendenz zu niedrigeren Plaqueindices (Plaqueindex-Werte alle $\leq 8,1$, durchschnittlicher Wert 7,1) an den Canini des Unterkiefers (Zähne 304; 404) festgestellt werden. Des Weiteren sind die 4. Prämolaren und die 1. Molaren des Unterkiefers links (308, 309), und -weniger deutlich-rechts (408, 409) geringer von Plaque betroffen (Plaqueindex-Werte alle $\leq 10,7$, durchschnittlich 8,5).

Tabelle 34: Mittlerer Plaqueindex PI ($\bar{x}\pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Zahn	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
204	0,00 ±0,00	11,00 ±4,80	0,00 ±0,00	10,89 ±4,83
207	0,00 ±0,00	13,22 ±5,12	0,00 ±0,00	13,78 ±3,07
208	0,00 ±0,00	17,00 ±2,45	0,00 ±0,00	12,22 ±3,49*
304	0,00 ±0,00	6,67 ±3,28	0,00 ±0,00	7,11 ±4,54
308	0,00 ±0,00	5,22 ±2,05	0,00 ±0,00	8,00±3,50
309	0,00 ±0,00	7,78 ±4,29	0,00 ±0,00	8,33 ±2,45
104	0,00 ±0,00	11,11 ±4,28	0,00 ±0,00	11,78 ±4,76
107	0,00 ±0,00	13,89 ±4,88	0,00 ±0,00	13,11 ±3,02
108	0,00 ±0,00	15,56 ±4,88	0,00 ±0,00	13,22 ±4,63
404	0,00 ±0,00	8,11 ±2,67	0,00 ±0,00	6,56 ±3,13
408	0,00 ±0,00	8,11 ±2,80	0,00 ±0,00	10,56 ±3,94
409	0,00 ±0,00	10,67 ±2,83	0,00 ±0,00	10,22 ±3,77
Maulhöhle	0,00 ±0,00	10,70 ±0,90	0,00 ±0,00	10,13 ±1,50

*: signifikanter Unterschied ($p<0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

4.1.3.7 Zahnsteinindex

Der Zahnsteinindex wird zur Erfassung der Zahnstein-Neubildung nach der Zahnsteinentfernung („clean-tooth“-Modell) bestimmt. Wie aus der Tabelle 35 ersichtlich, ist der Zahnsteinindex zum Zeitpunkt Tag 0 durch die vorausgegangene Zahnsteinentfernung gleich 0. Aus diesem Grund wurde auf eine statistische Untersuchung der Veränderungen innerhalb der Gruppen zwischen Tag 0 und Tag 28 verzichtet und stattdessen nur die Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt Tag 28 untersucht. Der Zahnsteinindex der Lactoferringruppe ist an Tag 28 tendenziell (um 7 %) geringer als der der Kontrollgruppe. Es ist jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen erkennbar.

Bei Betrachtung der mittleren Zahnsteinindices der verschiedenen Zähne kann in beiden Gruppen eine Tendenz zur verstärkten Zahnsteinbildung an den 3. und 4. Prämolaren des Oberkiefers festgestellt werden (Zähne 107, 108; 207, 208).

Tabelle 35: Mittlerer Zahnsteinindex CI (x±s) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Zahn	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
204	0,00 ±0,00	3,11± 2,47	0,00 ±0,00	2,67± 2,60
207	0,00 ±0,00	8,11± 3,37	0,00 ±0,00	9,33±3,50
208	0,00 ±0,00	9,00± 2,92	0,00 ±0,00	8,44± 2,60
304	0,00 ±0,00	0,00± 0,00	0,00 ±0,00	0,33± 1,0
308	0,00 ±0,00	0,67± 0,87	0,00 ±0,00	2,78± 3,80
309	0,00 ±0,00	0,22± 0,44	0,00 ±0,00	0,11± 0,33
104	0,00 ±0,00	4,78± 3,77	0,00 ±0,00	2,33± 1,41
107	0,00 ±0,00	7,44± 3,84	0,00 ±0,00	9,22± 2,59
108	0,00 ±0,00	8,44± 3,32	0,00 ±0,00	9,56± 3,21
404	0,00 ±0,00	0,11± 0,33	0,00 ±0,00	0,33± 1
408	0,00 ±0,00	0,67± 0,71	0,00 ±0,00	1,00± 0,87
409	0,00 ±0,00	0,00± 0,00	0,00 ±0,00	0,00± 0,00
Maulhöhle	0,00 ±0,00	3,54± 1,09	0,00 ±0,00	3,84± 1,13

*: signifikanter Unterschied (p<0,05) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

4.1.4 Bakteriologische Untersuchung

Bei den bakteriologischen Untersuchungen handelt es sich um rein qualitative Untersuchungen, eine statistische Auswertung der Ergebnisse wurde deshalb nicht durchgeführt. Die prozentuale Darstellung der Verteilung der isolierten Bakterienstämme auf acht Kategorien wurde nur zur Verbesserung der Übersichtlichkeit gewählt, es handelt sich dabei nicht um quantitative Aussagen. Quantitative Auswertungen wurden aufgrund der zumeist sehr großen Keimmengen (i.d.R. >10⁶ Keime/Platte) nicht durchgeführt. Die Zusammenstellungen der isolierten Bakterien sind nicht nach dem Ursprung der Bakterien (Tupfer-Suspension oder Rosenow-Bouillon) getrennt aufgeführt.

4.1.4.1 Grundstatus

Die von zehn Katzen an Tag 0 des Versuches I entnommenen Proben wurden bis zur Identifikation der einzelnen Spezies ausdifferenziert und daraus ein Grundstatus der Keimflora der Katzen erstellt. Aus den Proben dieser 10 Katzen wurden insgesamt 48

verschiedene aerobe und 23 verschiedenen anaerobe, insgesamt also 71 verschiedene Bakterienspezies isoliert. Diese werden in Tabelle 36 (aerobe Bakterien) und Tabelle 37 (anaerobe Bakterien) systematisch aufgelistet. Die Anzahl der Katzen, bei denen der jeweilige Keim isoliert wurde, wird in der rechten Spalte der Tabelle aufgeführt.

Eine Verteilung der isolierten Spezies auf die zehn Katzen ist den Tabellen 73 bis 77 im Anhang zu entnehmen.

Tabelle 36: Aerobe Bakterienflora der Versuchskatzen. Auflistung aller aeroben Bakterien, die isoliert werden konnten und Anzahl der Katzen (n=10) von denen der jeweilige Keim isoliert wurde.

Systematische Einordnung	Bakterienspezies	Anzahl der Katzen von denen der jeweilige Keim isoliert wurde									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
aerobe grampositive Kokken	<i>Aerococcus viridans</i>										
	<i>Gemella morbillorum</i>										
	<i>Kocuria rosea</i>										
	<i>Micrococcus</i> sp.										
	<i>Micrococcus lylae</i>										
	<i>Staphylococcus</i> sp.										
	<i>Staphylococcus aureus</i>										
	<i>Staphylococcus chromogenes</i>										
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>										
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>										
	<i>Staphylococcus hominis</i>										
	<i>Staphylococcus simulans</i>										
	<i>Staphylococcus warneri</i>										
	<i>Streptococcus bovis</i> I										
	<i>Streptococcus bovis</i> II										
	<i>Streptococcus suis</i>										
	<i>Streptococcus suis</i> I										
vergrünende Streptokokken											
aerobe grampositive Stäbchen	<i>Arcanobacterium haemolytica</i>										
	<i>Arthrobacter</i> sp.										
	<i>Bacillus</i> sp.										
	<i>Brevibacterium</i> sp.										
	<i>Cellulomonas</i> sp.										
	<i>Corynebacterium</i> sp.										
	<i>Corynebacterium accolens</i>										
	<i>Corynebacterium bovis</i>										
	<i>Corynebacterium propinquum</i>										
	<i>Corynebacterium ulcerans</i>										
	<i>Listeria</i> sp.										
	<i>Listeria grayi</i>										
	<i>Rothia dentocariosa</i>										
	<i>Streptomyces</i> sp.										
aerobe gramnegative Kokken	<i>Lautropia</i> sp.										
	<i>Neisseria cinerea</i>										
	<i>Neisseria dentiae</i>										

Fortsetzung Tabelle 36

aerobe gramnegative Stäbchen	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	■											
	<i>Actinobacillus lignersii</i>	■											
	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	■	■										
	<i>Burkholderia cepacia</i>	■											
	<i>Haemophilus aphrophilus</i>	■											
	<i>Moraxella sp.</i>	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	■											
	<i>Pasteurella sp.</i>	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
	<i>Pasteurella multocida</i>	■	■	■	■	■							
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	■	■										
	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	■											
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	■	■	■									
	<i>Wecksella virosa</i>	■											

Tabelle 37: Anaerobe Bakterienflora der Versuchskatzen. Auflistung aller anaeroben Bakterien die isoliert werden konnten und Anzahl der Katzen (n=10), bei denen der jeweilige Keim isoliert wurde.

Systematische Einordnung	Bakterienspezies	Anzahl der Katzen, von denen der jeweilige Keim isoliert wurde											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
anaerobe gram-positive Kokken	<i>Streptococcus intermedius</i>	■											
	<i>Peptostreptococcus sp.</i>	■											
anaerobe gram-positive Stäbchen	<i>Bifidobacterium sp.</i>	■	■										
	<i>Clostridium perfringens</i>	■											
	<i>Eubacterium lentum</i>	■	■	■	■	■							
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	■	■	■	■								
	<i>Propionibacterium sp.</i>	■	■	■	■								
	<i>Propionibacterium acnes</i>	■	■	■	■								
	<i>Propionibacterium propionicum</i>	■	■	■	■								
anaerobe gram-negative Kokken													
anaerobe gram-negative Stäbchen	<i>Bacteroides capillosus</i>	■											
	<i>Bacteroides fragilis</i> -Gruppe	■	■										
	<i>Bacteroides uniformis</i>	■											
	<i>Bilophila wadsworthia</i>	■											
	<i>Campylobacter gracilis</i>	■	■	■									
	<i>Fusobacterium sp.</i>	■	■										
	<i>Fusobacterium mortiferum</i>	■											
	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	■											
	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	■	■	■	■	■							
	<i>Prevotella sp.</i>	■											
	<i>Prevotella bivia</i>	■											
	<i>Prevotella buccae/oris</i>	■	■										
	<i>Prevotella melaninogenica/oralis</i>	■	■	■	■	■	■						
	<i>Wolinella sp.</i>	■	■										

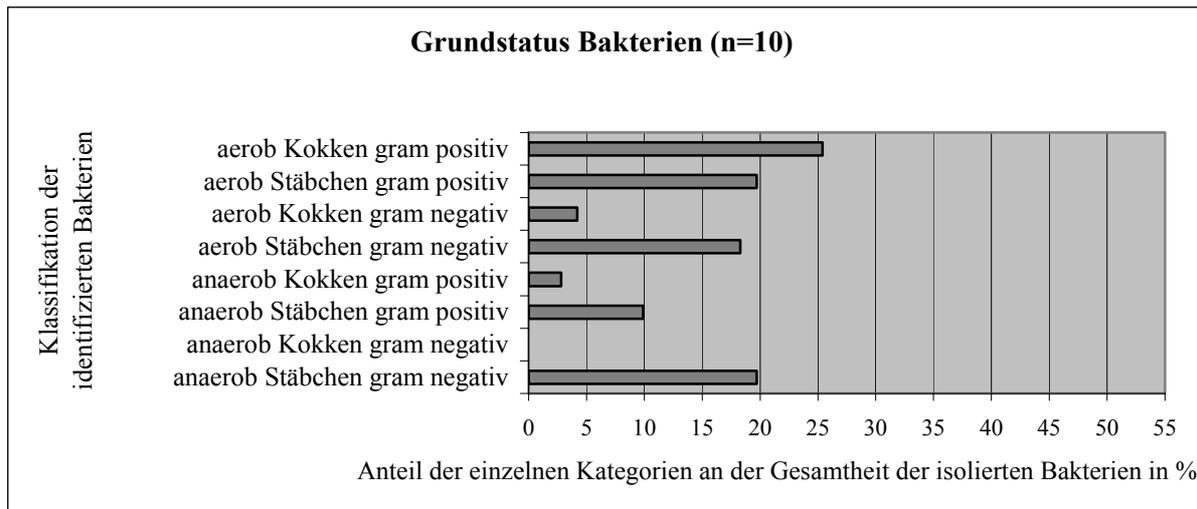


Abbildung 13: Darstellung der Verteilung der 71 isolierten Bakterienspezies auf die acht Kategorien (aerob/anaerob, Stäbchen/Kokke, grampositiv/gramnegativ).

Wie aus der Abbildung 13 ersichtlich ist, nehmen bei den zehn für die Erstellung des Grundstatus untersuchten Katzen die aeroben Bakterien den größeren Anteil (67,6%) an der Gesamtbakterienflora ein als die Anaerobier (32,4 %). Die Gruppe der aeroben grampositiven Kokken ist mit 25,4% die größte, dicht gefolgt von den aeroben grampositiven Stäbchen und den anaeroben gramnegativen Stäbchen mit jeweils 19,7%. Anaerobe gramnegative Kokken wurden bei diesen Katzen nicht isoliert.

Die am regelmäßigsten bei den Katzen isolierten Keime sind die aeroben Spezies *Corynebacterium*, *Moraxella*, *Pasteurella*, *Staphylokokkus* und die anaeroben Spezies *Prevotella*, *Eubacterium* und *Propionibacterium*. Diese Keime sind bei fast allen Katzen isolierbar (siehe Anhang: Verteilung der für den Grundstatus isolierten Keime auf die Katzen).

4.1.4.2 Vergleich der Maulhöhlenflora an Tag 0 mit Tag 28

In den folgenden Tabellen und Abbildungen wird die Maulhöhlenflora, die zum Zeitpunkt Tag 0 isoliert wurde, der Maulhöhlenflora, die zum Zeitpunkt Tag 28 isoliert wurde, bei vier Katzen gegenübergestellt.

4.1.4.2.1 Katzen der Kontrollgruppe

Katze 11

Aus der Abbildung 14 ist ersichtlich, dass die Bakterienflora der Katze 11 am Tag 0 zu 60% aus aeroben und zu 40% aus anaeroben Bakterien besteht. Dieses Verhältnis bleibt am Tag 28 nahezu erhalten (61,2% Aerobier zu 38,8% Anaerobier) (Abbildung 15).

Weder zum Zeitpunkt Tag 0 noch Tag 28 sind aerobe gramnegative Kokken isoliert worden.

Zum Zeitpunkt Tag 0 nehmen die grampositiven Stäbchen den größten Anteil der aeroben Flora ein, am Tag 28 sind es die grampositiven Kokken.

Auch bei der anaeroben Flora wurden zu keinem Zeitpunkt gramnegative Kokken isoliert. Auffällig ist eine Abnahme der grampositiven Anaerobier (Kokken und Stäbchen) von Tag 0 auf Tag 28. Dabei nehmen die anaeroben gramnegativen Stäbchen um 9,3% zu, so dass insgesamt die Anaerobier wieder einen Anteil von ca. 40% der gesamten isolierten Bakterien einnehmen.

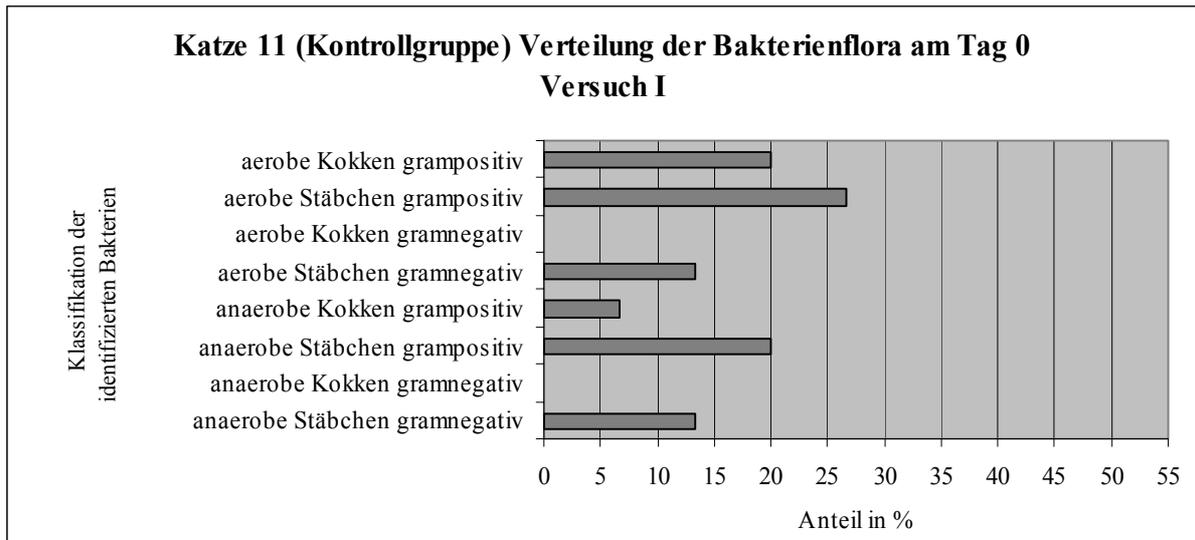


Abbildung 14: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 11 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I)

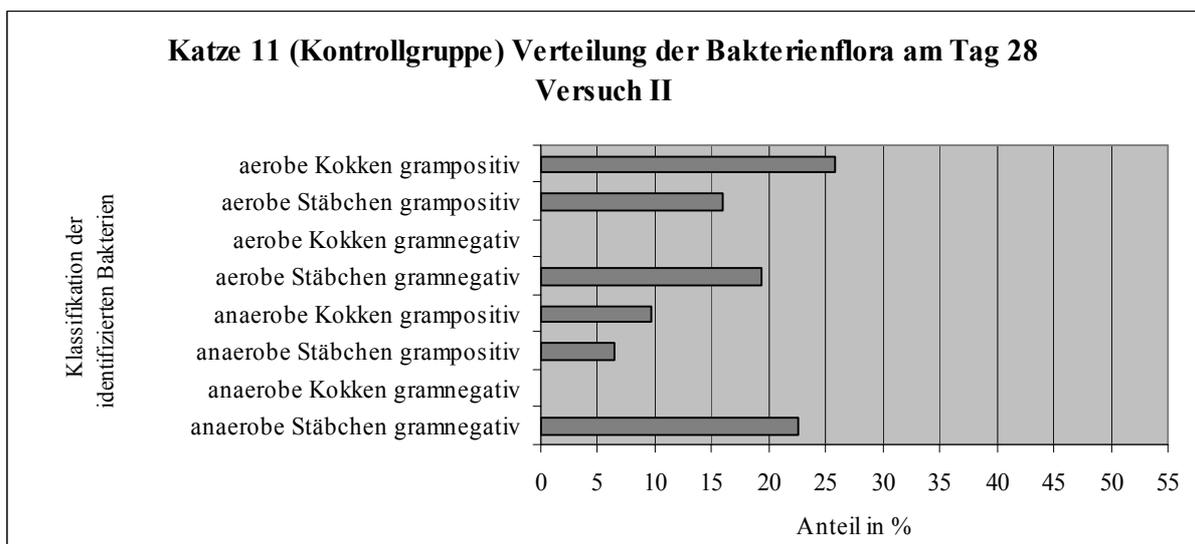


Abbildung 15: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 11 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I)

Tabelle 38: Katze 11 (Kontrollgruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend (Versuch I)

Aerobier	Katze 11 Tag 0	Katze 11 Tag 28
Kokken grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Staphylococcus epidermidis • Staphylococcus hominis • Streptococcus suis 	<ul style="list-style-type: none"> • koagulasenegative Staphylokokken • Micrococcus luteus • Micrococcus lylae • Staphylococcus chromogenes • Staphylococcus epidermidis • Staphylococcus haemolyticus • Streptococcus suis • Streptococcus suis II
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Bacillus sp. • Cellulomonas sp. • Corynebacterium bovis • Corynebacterium sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacillus sp. • Cellulomonas sp. • Corynebacterium sp. • Corynebacterium sp. • Corynebacterium striatum
Kokken gramnegativ		
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Moraxella sp. • Pasteurella sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Haemophilus sp. • Moraxella sp. • Pasteurella sp. • Sphingomonas paucimobilis • Vibrio hollisae • Weeksella virosa
Anaerobier	Katze 11 Tag 0	Katze 11 Tag 28
Kokken grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Peptostreptococcus sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Peptoniphilus indolicus • Peptostreptococcus tetradius • Peptostreptococcus sp.
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Eubacterium lentum • Propionibacterium acnes • Propionibacterium sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Actinomyces meyeri/odontolyticus • Eubacterium lentum
Kokken gramnegativ		
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Fusobacterium sp. • Prevotella melaninogenica/oralis 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacteroides stercoris • Campylobacter gracilis • Fusobacterium necrophorum • Fusobacterium sp. • Porphyromonas asaccharolytica • Porphyromonas gingivalis • Prevotella melaninogenica/oralis

In der Tabelle 38 ist zum Zeitpunkt Tag 28 eine größere Artenvielfalt erkennbar als am Tag 0. Von den aeroben Bakterien kommen folgende zu beiden Zeitpunkten vor: Staphylokokkus-, Cellulomonas-, Bacillus-, Moraxella- und Pasteurella-Spezies.

Von den anaeroben Bakterienstämmen kommen Eubacterium lentum, Fusobacterium- und Prevotella- Spezies zu beiden Zeitpunkten vor.

Peptostreptococcen sind keine häufig vorkommenden Keime in der Maulhöhle der Katzen. Bei der Katze 11 wurden jedoch sowohl zum Zeitpunkt Tag 0 als auch Tag 28 Peptostreptococcus Spezies isoliert.

Katze 12

Aus der Abbildung 16 ist ersichtlich, dass die isolierte Bakterienflora der Katze 12 am Tag 0 zu 70% aus aeroben und zu 30 % aus anaeroben Bakterien besteht. Dieses Verhältniss bleibt am Tag 28 ähnlich, jedoch mit geringgradiger Zunahme der Aerobier und Verlust der Anaerobier ($\pm 5\%$) (Abbildung 17).

Zum Zeitpunkt Tag 0 wurden aerobe gramnegative Kokken isoliert, diese konnten aber an Tag 28 nicht mehr beobachtet werden. Anaerobe gramnegative Kokken wurden weder an Tag 0 noch an Tag 28 isoliert. Die aeroben grampositiven Kokken nehmen zu beiden Zeitpunkten den größten Teil der isolierten Bakterienflora ein.

An Tag 0 besteht die anaerobe Flora vorwiegend aus anaeroben grampositiven Stäbchen, an Tag 28 verteilen sich die anaeroben Keime fast gleichmäßig auf drei Kategorien (grampositive und gramnegative Stäbchen, grampositive Kokken).

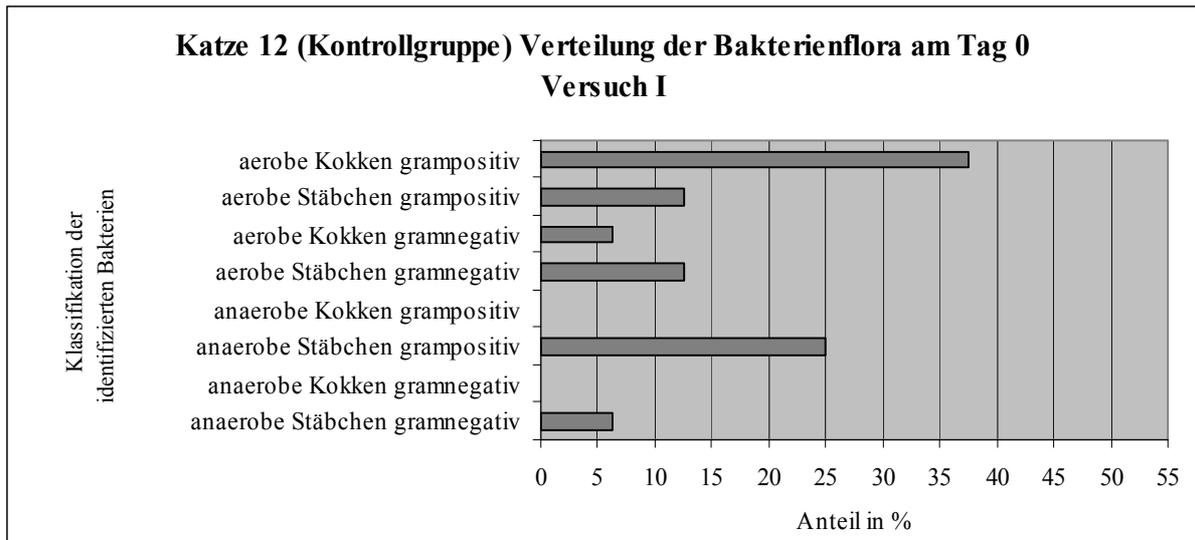


Abbildung 16: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 12 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I)

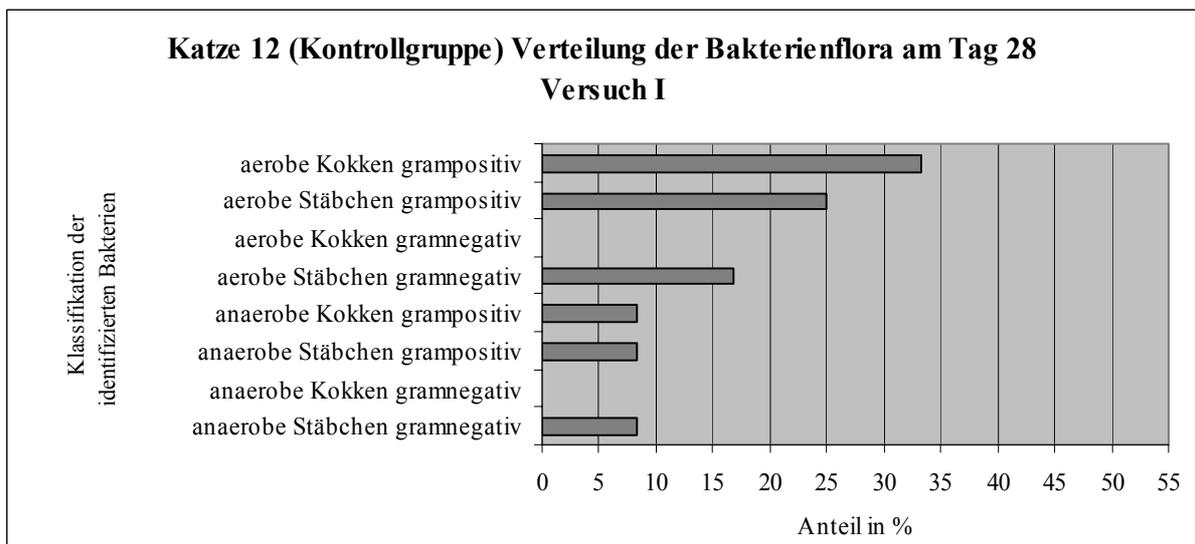


Abbildung 17: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 12 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I)

Tabelle 39: Katze 12 (Kontrollgruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend (Versuch I)

Aerobier	Katze 12 Tag 0	Katze 12 Tag 28
Kokken grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Kocuria rosea • Micrococcus lylae • Micrococcus sp. • Staphylococcus chromogenes • Staphylococcus epidermidis • Staphylococcus sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Staphylococcus caprae • Staphylococcus epidermidis • Streptococcus saliv. salivarius • vergrünende Streptokokken
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Brevibacterium sp. • Cellulomonas sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Corynebacterium sp. • Listeria grayi
Kokken gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Neisseria cinera 	
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Moraxella sp. • Pasteurella sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Aeromonas sp. • Pasteurella sp.
Anaerobier	Katze 12 Tag 0	Katze 12 Tag 28
Kokken grampositiv		<ul style="list-style-type: none"> • Streptococcus intermedius
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Clostridium perfringens • Eubacterium lentum • Propionibacterium acnes • Propionibacterium propionicum 	<ul style="list-style-type: none"> • Lactobacillus acidophilus
Kokken gramnegativ		
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Prevotella melaninogenica/oralis 	<ul style="list-style-type: none"> • Prevotella sp.

In der Tabelle 39 ist zum Zeitpunkt Tag 0 eine größere Artenvielfalt erkennbar als an Tag 28. Von den aeroben Bakterien kommen Staphylokokkus-, und Pasteurella- Spezies zu beiden Zeitpunkten vor. Von den anaeroben Bakterienstämmen kommen Prevotella- Spezies zu beiden Zeitpunkten vor. Gramnegative anaerobe Kokken konnten zu keinem Zeitpunkt isoliert werden. Nur fünf der elf an Tag 28 isolierten Bakterien kommen an Tag 0 ebenfalls vor, mehr als die Hälfte der an Tag 28 isolierten Bakterien sind „neu“.

4.1.4.2.2 Katzen der Lactoferringruppe

Katze 1

Aus der Abbildung 18 ist ersichtlich, dass die Bakterienflora der Katze 1 am Tag 0 zu 29 % aus aeroben und zu 71 % aus anaeroben Bakterien besteht. Dieses Verhältnis bleibt am Tag 28 (Abbildung 19) nahezu erhalten (72% Aerobier zu 28% Anaerobier).

Zum Zeitpunkt Tag 0 sind die isolierten Keime auf nur vier der acht Kategorien verteilt. Es konnten keine aeroben grampositiven Kokken isoliert werden und alle isolierten Anaerobier sind gramnegative Stäbchen. Auffällig ist der große Anteil der grampositiven Stäbchen an den Aerobiern (60%).

Zum Zeitpunkt Tag 28 sind die isolierten Keime auf sechs Kategorien verteilt. Wie an Tag 0 kommen keine anaeroben Kokken vor. Bei den Aerobiern kommen an Tag 28 alle vier Kategorien vor, grampositive Kokken und Stäbchen kommen zu gleichen Anteilen vor.

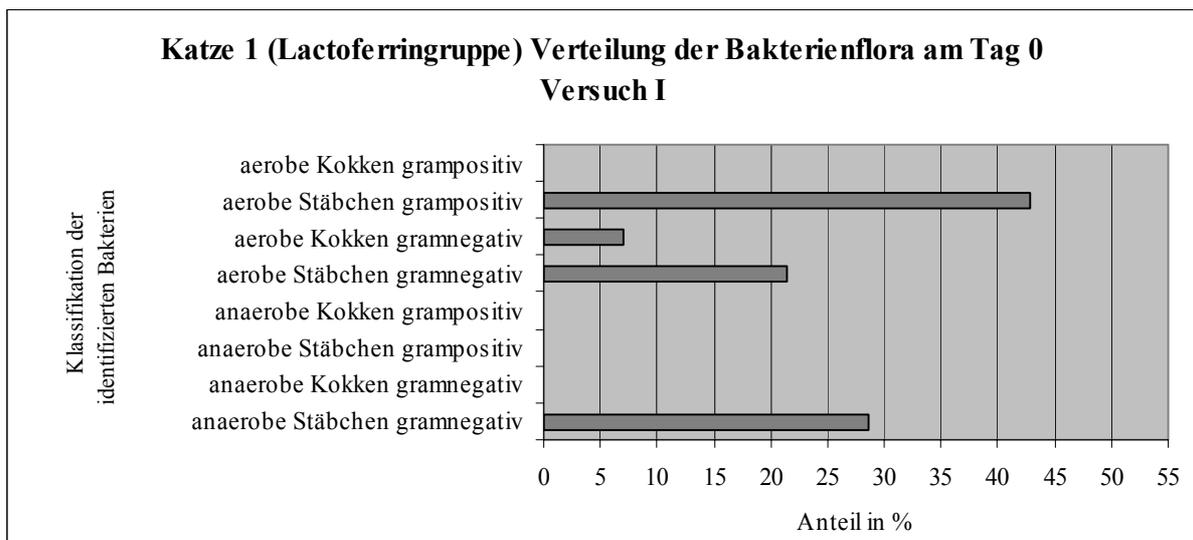


Abbildung 18: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 1 (Lactoferringruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I)

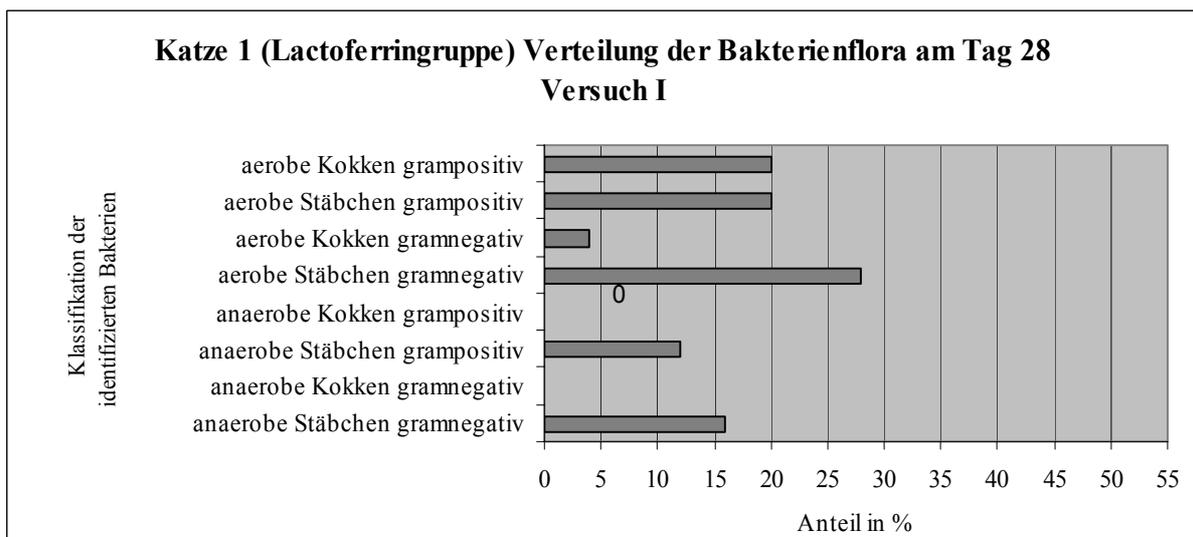


Abbildung 19: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 1 (Lactoferringruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I)

Tabelle 40: Katze 1 (Lactoferringruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend

Aerobier	Katze 1 Tag 0	Katze 1 Tag 28
Kokken grampositiv		<ul style="list-style-type: none"> • Gemella morbillorum • koagulasenegative Staphylokokken • Staphylococcus sp. • Streptococcus suis I • Streptococcus suis II
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Arcanobacterium haemolytica • Brevibacterium sp. • Corynebacterium accolens • Corynebacterium propinquum • Corynebacterium sp. • Corynebacterium ulcerans 	<ul style="list-style-type: none"> • Arcanobacterium haemolytica • Brevibacterium sp. • Cellulomonas sp. • Rothia dentocariosa • Streptomyces sp.
Kokken gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Lautropia sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Neisseria sp.
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Moraxella sp. • Pasteurella sp. • Weeksella virosa 	<ul style="list-style-type: none"> • Aeromonas hydrophila./caviae • Haemophilus aphrophilus • Moraxella sp. • Pasteurella (Mannheimania) haemol. • Pasteurella sp. • Sphingomonas paucimobilis • Vibrio hollisae
Anaerobier	Katze 1 Tag 0	Katze 1 Tag 28
Kokken grampositiv		
Stäbchen grampositiv		<ul style="list-style-type: none"> • Eubacterium lentum • Propionibacterium acnes • Propionibacterium sp.
Kokken gramnegativ		
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Campylobacter gracilis • Porphyromonas asaccharolytica • Prevotella melaninogenica/oralis • Wolinella sp 	<ul style="list-style-type: none"> • Fusobacterium mortiferum • Fusobacterium sp. • Porphyromonas asaccharolytica • Prevotella sp.

In der Tabelle 40 ist zum Zeitpunkt Tag 28 eine größere Artenvielfalt erkennbar als zum Zeitpunkt Tag 0. Außer gramnegativen anaeroben Kokken konnten Bakterien aller Kategorien isoliert werden.

Von den aeroben Bakterien kommen folgende zu beiden Zeitpunkten vor: Pasteurella-, Moraxella-, Brevibacterium. Von den anaeroben Bakterien kommen Porphyromonas asaccharolytica und Prevotella speziez zu beiden Zeitpunkten vor.

Bei Katze 1 ist auffällig, dass sowohl zum Zeitpunkt Tag 0 als auch Tag 28 das bei der Erhebung des Grundstatus selten vorkommenden aerobe gramnegative Stäbchen Arcanobacterium haemolytica isoliert wurde.

Katze 4

Aus der Abbildung 20 ist ersichtlich, dass die Bakterienflora der Katze 4 zum Zeitpunkt Tag 0 zu 76% aus aeroben Bakterien und zu 24% aus anaeroben Bakterien besteht. Dieses Verhältnis bleibt an Tag 28 (Abbildung 21) nahezu erhalten (75% Aerobier, 25% Anaerobier).

Die Verteilung der isolierten Bakterienspezies auf die acht verschiedenen Kategorien unterscheidet sich an Tag 0 und Tag 28 deutlich.

Zum Zeitpunkt Tag 0 dominieren die aeroben grampositiven Kokken mit über 45% der Gesamtbakterienflora. An Tag 28 wurden keine grampositiven Kokken mehr isoliert. Den größten Anteil nehmen an Tag 28 mit 50% die aeroben grampositiven Stäbchen ein. Bei den anaeroben Bakterien sind die Veränderungen weniger deutlich. Zum Zeitpunkt Tag 0 wurden gleichviel anaerobe grampositive Kokken wie Stäbchen isoliert, den Hauptanteil der anaeroben Bakterien nehmen allerdings die gramnegativen Stäbchen ein. An Tag 28 konnten keine anaeroben grampositiven Stäbchen mehr isoliert werden, dafür aber mehr anaerobe grampositive Kokken als an Tag 0. Der Anteil an gramnegativen Stäbchen ist annähernd gleich geblieben.

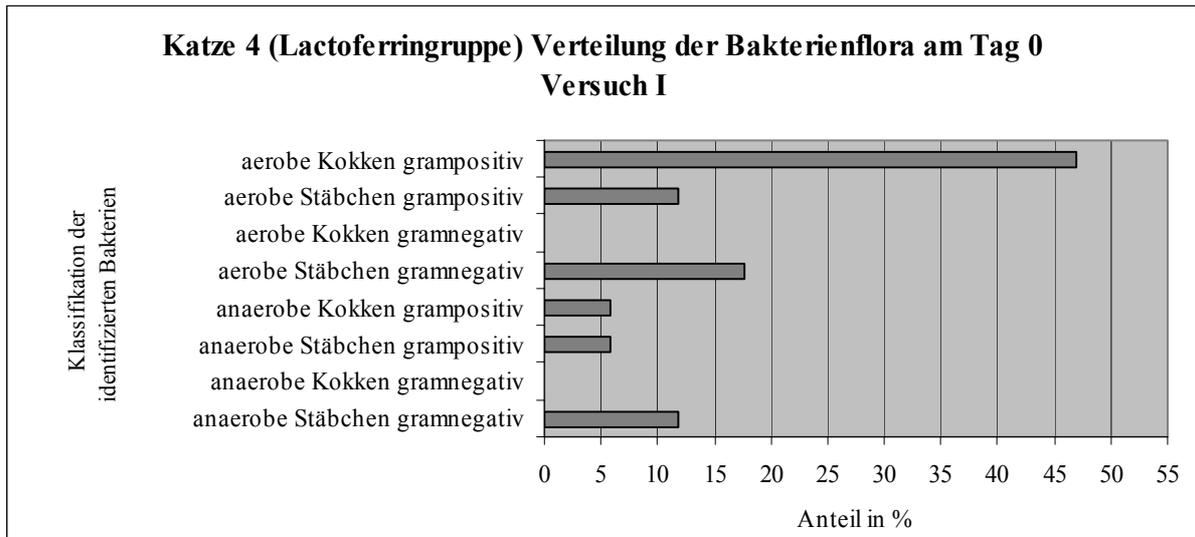


Abbildung 20: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 4 (Lactoferringruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I)

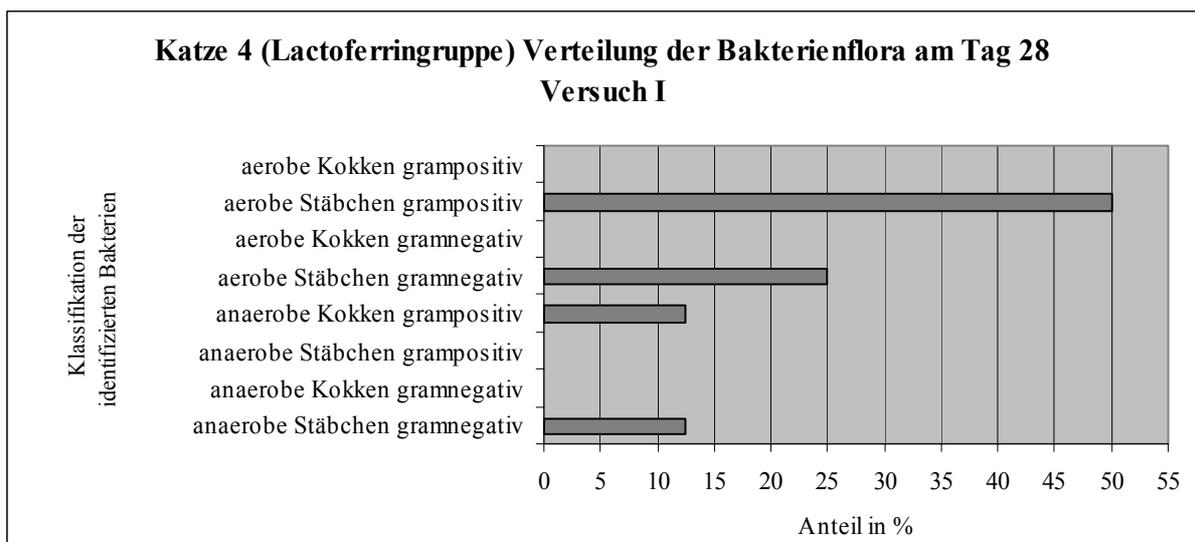


Abbildung 21: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 4 (Lactoferringruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch I)

Tabelle 41: Katze 4 (Lactoferringruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend

Aerobier	Katze 4 Tag 0	Katze 4 Tag 28
Kokken grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Aerococcus viridans • Staphylococcus aureus • Staphylococcus haemolyticus • Staphylococcus simulans • Staphylococcus sp. • Staphylococcus warneri • Streptococcus suis I • vergrünende Streptokokken 	
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Brevibacterium sp. • Corynebacterium sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Corynebacterium kutscheri • Corynebacterium sp. • Corynebacterium striatum • Rothia dentocariosa
Kokken gramnegativ		
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Burkholderia cepacia • Pasteurella multocida • Pseudomonas fluorescens 	<ul style="list-style-type: none"> • Haemophilus parainfluenzae • Pasteurella sp.
Anaerobier	Katze 4 Tag 0	Katze 4 Tag 28
Kokken grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Streptococcus intermedius 	<ul style="list-style-type: none"> • Peptostreptococcus asaccherolyticus
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Bifidobacterium sp. 	
Kokken gramnegativ		
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Bacteroides capillosus • Bacteroides fragilis-Gruppe 	<ul style="list-style-type: none"> • Fusobacterium necrophorum

In der Tabelle 41 ist zum Zeitpunkt Tag 0 eine größere Artenvielfalt erkennbar als zum Zeitpunkt Tag 28. Außer gramnegativen Kokken (aerob und anaerob) konnten Bakterien aller Kategorien isoliert werden.

Von den aeroben Bakterien kommen folgende zu beiden Zeitpunkten vor: Pasteurella-, und Corynebacterium. Von den anaeroben Bakterien wurden bei Katze 4 keine isoliert, die sowohl an Tag 0 als auch an Tag 28 vorkommen.

Bei Katze 4 ist auffällig, dass die Flora zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 deutlich variiert und nur sehr wenige Keime konstant isoliert werden können.

4.1.4.3 In-vitro-Untersuchung der antibakteriellen Aktivität von Lactoferrin

Ergebnisse der Vorversuche

- a) Um Veränderungen (z. B. Verfärbungen) des Blutagars durch LF festzustellen, wurde ein Tropfen einer LF-Lösung auf eine Schafblutagarplatte aufgebracht. Nach 48 stündiger Bebrütung bei 37°C konnte keine makroskopische Veränderung des Nährbodens festgestellt werden.
- b) Um eine Hemmwirkung des Lactoferrins auf die Maulhöhlenflora der Katzen zu untersuchen wurde ein Tropfen einer 10%igen LF-Lösung auf eine Blutagarplatte ausgebracht. Die Blutagarplatte war zuvor mit ca. 10 µl aus der Tupfer-Suspension von einer der Versuchskatzen bestrichen worden. Es konnte keine Hemmwirkung des LF auf das Wachstum der Maulhöhlenflora auf Blutagarplatten festgestellt werden.
- c) Eine weitere Untersuchung zur Hemmwirkung von LF auf die Maulhöhlenflora (Bakterien aus einer Tupfer-Suspension der Versuchskatzen) wurde nach dem gleichen Schema wie in b) auf einer Müller-Hinton-Platte durchgeführt. Sowohl auf der aerob als auch auf der anaerob bebrüteten Platte war ein Hemmhof um den LF-Tropfen herum sichtbar. Eine Veränderung des Nährbodens war nicht erkennbar. Alle weiteren Versuche wurden mit Müller-Hinton-Agar-Platten durchgeführt.

Ergebnisse des Hauptversuches

LF wurde in verschiedenen Konzentrationen auf Müller-Hinton-Agar auf die Hemmwirkung gegenüber der Maulhöhlenflora der Katzen untersucht. Wie aus der Tabelle 42 ersichtlich ist, konnte bei einer Konzentration von 10 mg /100 µl eine Hemmhofbildung erreicht werden. Diese war jedoch nur auf der aerob bebrüteten Platte sichtbar (siehe Abbildung 22 und Abbildung 23). Die anaerob bebrütete Platte war nur sehr dünn mit Bakterien bewachsen, so dass eine sichere Aussage über eine Hemmhofbildung nicht möglich war.

Tabelle 42: Untersuchung der Wachstumshemmung von Mischkulturen aus der Tupfer-Suspension durch Lactoferrin auf Müller-Hinton-Agar bei aerober und anaerober Bebrütung

Lactoferrin Dosis (mg/100µl)	Bebrütung	Beschreibung des Wachstums
0 (Kontrolle)	aerob	Artenarme Mischflora, dichtes Wachstum
	anaerob	3 verschiedene Keimarten, sehr schwaches Wachstum
10	aerob	Artenarme Mischflora, dichtes Wachstum, Hemmhof um LF 3-4 mm
	anaerob	3 verschiedene Keimarten, sehr schwaches Wachstum, Hemmhof nicht definierbar
1	aerob	Artenarme Mischflora, dichtes Wachstum, Hemmhof nicht definierbar
	anaerob	3 verschiedene Keimarten, sehr schwaches Wachstum, Hemmhof nicht definierbar
0,01	aerob	Artenarme Mischflora, dichtes Wachstum, Hemmhof nicht sichtbar
	anaerob	3 verschiedene Keimarten, sehr schwaches Wachstum, Hemmhof nicht definierbar

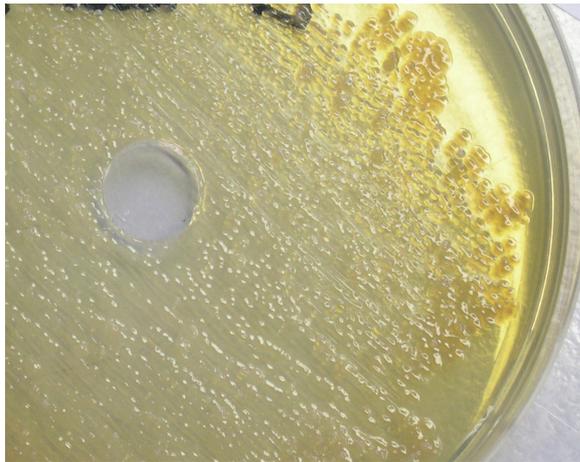


Abbildung 22: Kontrolle ohne Lactoferrin auf aerob bebrütetem Müller-Hinton-Agar

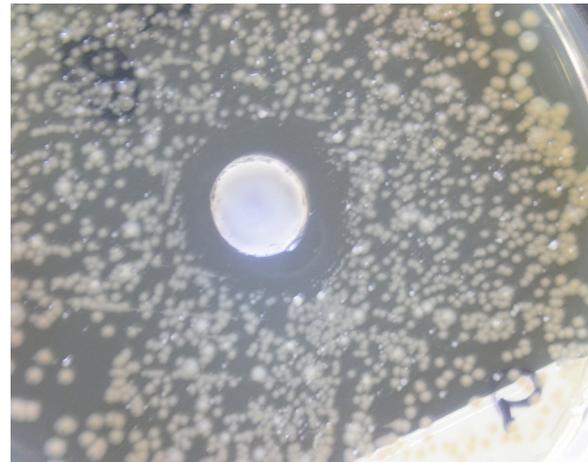


Abbildung 23: Hemmhofbildung durch Lactoferrin (10mg/100µl) auf aerob bebrütetem Müller-Hinton-Agar

4.1.5 Antioxidativer Status

Als Nebenzielgröße wurde der Einfluss von LF auf den Antioxidativen Status der Katzen untersucht.

4.1.5.1 Vitamin E-Konzentration im Serum

In Tabelle 43 werden die mittleren Konzentrationen (in µg/ml) von Vitamin E im Serum der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 dargestellt. Die Kontrollgruppe hat mit $9,35 \pm 1,13$ µg/ml einen niedrigeren Ausgangswert als die Lactoferringruppe ($11,24 \pm 2,66$ µg/ml). Die Vitamin E-Konzentrationen im Serum fielen bei beiden Gruppen vom Zeitpunkt Tag 0 auf den Zeitpunkt Tag 28 ab, dieser Abfall war jedoch nur bei der Kontrollgruppe statistisch signifikant.

Tabelle 43: Mittlere Vitamin E-Gehalte (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in µg/ml von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Parameter	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
Vitamin E	9,35 ±1,13	7,88 [#] ±1,19	11,24 ±2,66	10,21 ±3,50

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe
Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.1.5.2 Vitamin C-Konzentration im Serum

In Tabelle 44 werden die mittleren Konzentrationen (in µg/ml) von Vitamin C im Serum der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 dargestellt. Die Kontrollgruppe hat mit 14,22±17,25 µg/ml einen niedrigeren Ausgangswert als die Lactoferringruppe (16,92±15,87 µg/ml). Die Vitamin C-Konzentrationen im Serum fallen in beiden Gruppen vom Zeitpunkt Tag 0 auf den Zeitpunkt Tag 28 ab. Dieser Abfall ist bei der Kontrollgruppe deutlicher (um 4,57 µg/ml statt 2,76 µg/ml in der Lactoferringruppe), er ist jedoch bei keiner der Gruppen statistisch signifikant (p=0,064).

Tabelle 44: Mittlere Vitamin C-Gehalte (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in µg/ml von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Parameter	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
Vitamin C	14,22 ±17,25	9,65 ±1,49	16,92 ±15,87	14,15 ±8,97

*: signifikanter Unterschied (p<0,05) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe
 Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied (p<0,05) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.1.5.3 Trolox Equivalent Antioxidant Capacity im Serum

In Tabelle 45 wird die mittlere TEAC (in mmol/l) im Serum der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 dargestellt. Die Kontrollgruppe hat mit 0,417±0,042 mmol/l einen niedrigeren Ausgangswert als die Lactoferringruppe (0,435±0,0067). Die mittlere TEAC im Serum der Kontrollgruppe bleibt von Zeitpunkt Tag 0 auf Tag 28 nahezu identisch, in der Lactoferringruppe erfolgt ein Abfall der mittleren TEAC um 0,021 mmol/l. Diese Veränderung ist statistisch nicht signifikant.

Tabelle 45: Mittlere TEAC (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in mmol/l, von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Parameter	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
TEAC	0,417 ±0,042	0,423 ±0,047	0,435 ±0,006	0,414 ±0,062

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe
 Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.1.5.4 Creatin-Kinase im Serum

In Tabelle 46 wird die mittlere CK-Konzentration (in U/l) im Serum der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 dargestellt.

Alle mittleren CK-Konzentrationen liegen über dem Referenzbereich für die CK bei Katzen.

Die Kontrollgruppe hat mit $273,88 \pm 231,77$ U/l einen niedrigeren Ausgangswert als die Lactoferringruppe ($349,33 \pm 283,55$ U/l). Die mittlere CK-Konzentration sinkt in beiden Gruppen von Tag 0 auf Tag 28 ab. Dieser Abfall ist bei der Lactoferringruppe deutlicher (138,78 U/l) als bei der Kontrollgruppe (13,22 U/l), er ist jedoch in keiner der beiden Gruppen statistisch signifikant.

Tabelle 46: Mittlere Konzentrationen der Creatin-Kinase (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in U/l, von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Parameter	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
CK	273,89 ±231,77	260,67 ±148,82	349,33 ±283,55	210,56 ±161,11

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe
 Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.1.5.5 Aspartat-Aminotransferase im Serum

In Tabelle 47 wird die mittlere AST-Konzentration (in U/l) im Serum der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 dargestellt.

Die mittleren AST-Konzentrationen der Kontrollgruppe liegen zu beiden Messzeitpunkten im Referenzbereich der AST für Katzen. Die mittlere AST-Konzentration der Lactoferringruppe liegt nur an Tag 28 im Referenzbereich, an Tag 0 liegt sie mit $33,44 \pm 6,75$ U/l geringfügig darüber.

Die Kontrollgruppe hat mit $28,33 \pm 9,17$ U/l einen niedrigeren Ausgangswert als die Lactoferringruppe ($33,44 \pm 6,75$ U/l). Die mittlere AST-Konzentration sinkt bei beiden Gruppen von Tag 0 auf Tag 28 ab. Diese Verminderung ist in der Lactoferringruppe deutlicher ($9,33$ U/l) als in der Kontrollgruppe ($3,89$ U/l). Statistisch signifikant ist nur die Verminderung in der Lactoferringruppe.

Tabelle 47: Mittlere Konzentration der Aspartat-Aminotransferase (MW \pm Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in U/l, von der Lactoferringruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch I)

Parameter	Kontrollgruppe		Lactoferringruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
AST	28,33 $\pm 9,17$	24,44 $\pm 8,79$	33,44 $\pm 6,75$	24,11 [#] $\pm 4,29$

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der Lactoferringruppe
Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.2 Versuch II (Wirkstoff (-)-Epigallocatechingallat)

4.2.1 Allgemeinzustand und Gewichtsentwicklung

Das Allgemeinbefinden der Katzen war vor dem Versuchsbeginn und während des gesamten Versuchszeitraumes ungestört.

Die Bestimmung der Körpergewichte erfolgte jeweils vor der Anästhesie an Tag 0 und Tag 28. Die Tabelle 48 zeigt, dass die mittleren Körpergewichte in der EGCG-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 identisch waren. In der Kontrollgruppe war das mittlere Körpergewicht an Tag 28 um $0,21$ kg höher als an Tag 0. Dieser Unterschied in der Gewichtsentwicklung zwischen den Gruppen ist jedoch nicht statistisch signifikant.

Tabelle 48: Mittleres Gewicht in kg (MW±Stabw.) der Katzen der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Parameter	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
Gewicht	3,85 ±1,09	4,06 ±1,14	4,24 ±0,92	4,24 ±0,88

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.2.2 Blutbilder

Zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 wurde nach Narkoseeintritt von allen Katzen Blut gewonnen. Neben der Bestimmung der Parameter für den Antioxidativen Status wurde aus den Blutproben eine Analyse des roten und weißen Blutbildes für jede Katze durchgeführt. Referenzbereiche, auf die Bezug genommen wird, stammen von KRAFT und DÜRR (1997).

4.2.2.1 Rotes Blutbild

Alle Mittelwerte der Parameter des roten Blutbildes liegen zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 im Referenzbereich für Katzen. Wie aus der Tabelle 49 zu entnehmen ist, können an den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 zwischen der Kontroll- und der EGCG-Gruppe keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, die Mittelwerte bleiben während der Versuchsdauer nahezu identisch.

Tabelle 49: Mittlere Erythrozytenanzahl ($\times 10^{12}/l$), mittlerer Hämatokrit (%), mittlerer Hämoglobingehalt (mmol/l) und mittlere Erythrozytenindices (MCV in fl, MCH in fmol, MCHC in mmol/l) \pm Stabw. der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Rotes Blutbild	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
Erythrozytenzahl	8,66 \pm 0,71	8,79 \pm 1,28	9,54 \pm 1,19	9,03 \pm 1,24
Hämatokrit	37,07 \pm 4,11	37,11 \pm 5,94	39,52 \pm 4,59	37,48 \pm 5,09
Hämoglobin	7,75 \pm 0,57	7,58 \pm 1,00	8,01 \pm 1,07	7,60 \pm 1,06
MCV	42,70 \pm 1,75	42,18 \pm 1,66	41,50 \pm 2,01	41,51 \pm 1,24
MCHC	21,02 \pm 1,36	20,53 \pm 0,87	20,26 \pm 0,73	20,26 \pm 0,61
MCH	0,90 \pm 0,05	0,87 \pm 0,03	0,84 \pm 0,03	0,84 \pm 0,04

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.2.2.2 Weißes Blutbild

Das vollständige weiße Blutbild (Tabelle 50) setzt sich aus der Leukozytenzahl und dem Differentialblutbild mit der Angabe der verschiedenen Blutzellen in Prozent der Gesamtleukozytenzahl und in absoluten Zahlen ($\times 10^9/l$) zusammen.

Die Mittelwerte der Leukozytenzahlen lagen in beiden Gruppen zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 im Referenzbereich. Weder in der Kontrollgruppe noch in der EGCG-Gruppe ist ein statistisch signifikanter Anstieg oder Abfall zwischen den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 erkennbar. In der EGCG-Gruppe ist jedoch ein tendenzieller ($p^{\#}=0,072$) Anstieg der Leukozytenzahl um 2,31 ($\times 10^9/l$) von Tag 0 auf Tag 28 zu sehen.

Die mittlere Anzahl der neutrophilen Granulozyten liegen in beiden Gruppen zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 im Referenzbereich. Die Anzahl der neutrophilen Granulozyten steigt in der EGCG-Gruppe tendenziell etwas an (um 1,9 $\times 10^9/l$). In der Kontrollgruppe sind die Werte von Tag 0 und Tag 28 nahezu identisch.

Weder bei der Kontrollgruppe noch bei der EGCG-Gruppe ist ein statistisch signifikanter Anstieg oder eine Verminderung der Anzahl der neutrophilen Granulozyten zwischen den Blutentnahmezeitpunkten Tag 0 und Tag 28 feststellbar. Der Anteil der neutrophilen

Granulozyten an der Gesamtzahl der Leukozyten liegt in beiden Gruppen sowohl an Tag 0 als auch an Tag 28 unter dem Referenzbereich (um bis zu 12%-Punkte). Weder in der Kontrollgruppe noch in der EGCG-Gruppe ist eine statistisch signifikante Veränderung der Werte zwischen Tag 0 und Tag 28 erkennbar.

Die Mittelwerte der Lymphozytenzahlen liegen in beiden Gruppen sowohl an Tag 0 als auch an Tag 28 im Referenzbereich. Weder in der Kontrollgruppe noch in der EGCG-Gruppe ist ein statistisch signifikanter Anstieg oder Abfall der Lymphozytenzahlen zwischen Tag 0 und Tag 28 sichtbar. Der Anteil der Lymphozyten an der Gesamtzahl der Leukozyten liegt ebenfalls in beiden Gruppen zu allen Messzeitpunkten im Referenzbereich. Auch hier sind keine statistisch signifikanten Veränderungen der Werte zwischen Tag 0 und Tag 28 erkennbar.

Die Mittelwerte der Monozytenzahlen liegen, bis auf die Werte der EGCG-Gruppe an Tag 28, im Referenzbereich. Die Monozyten der EGCG-Gruppe an Tag 28 liegen bei $0,58 \pm 0,29 \times 10^9/l$ und damit um $0,08 \times 10^9/l$ über dem Referenzbereich. Zwischen Tag 0 und Tag 28 steigt die Monozytenzahl der EGCG-Gruppe um $0,19 \times 10^9/l$ von $0,39 \pm 0,18 \times 10^9/l$ auf $0,58 \pm 0,29 \times 10^9/l$ an. Dieser Anstieg ist jedoch nicht statistisch signifikant.

Der Anteil der Monozyten an der Gesamtzahl der Leukozyten liegt in beiden Gruppen zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 über dem Referenzbereich. Die Werte der Kontrollgruppe sind an Tag 0 und an Tag 28 nahezu identisch, die der EGCG-Gruppe steigen von Tag 0 auf Tag 28 um $0,84$ %-Punkte an. Dieser Anstieg ist ebenfalls nicht statistisch signifikant.

Die mittlere Anzahl der eosinophilen Granulozyten liegt sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der EGCG-Gruppe zu beiden Blutentnahmezeitpunkten um durchschnittlich $0,19 \times 10^9/l$ über dem Referenzbereich. In der EGCG-Gruppe ist ein Anstieg der eosinophilen Granulozyten um $0,21 \times 10^9/l$ von $0,65 \pm 0,22 \times 10^9/l$ an Tag 0 auf $0,86 \pm 0,55 \times 10^9/l$ an Tag 28 feststellbar. Dieser Anstieg ist jedoch nicht statistisch signifikant. Die Werte der Kontrollgruppe unterscheiden sich an Tag 0 und Tag 28 nahezu nicht.

Der Anteil der eosinophilen Granulozyten an der Leukozytengesamtzahl liegt ebenfalls in beiden Gruppen zu beiden Messzeitpunkten über dem Referenzbereich. Zwischen den Messzeitpunkten Tag 0 und Tag 28 sind sowohl in der EGCG-Gruppe als auch in der Kontrollgruppe keine signifikanten Veränderungen sichtbar. Die Werte bleiben nahezu gleich.

Die mittlere Anzahl der basophilen Granulozyten liegt in beiden Gruppen an Tag 0 und Tag 28 im oberen Referenzbereich. Die Anzahl der basophilen Granulozyten ist in der EGCG-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 identisch, in der Kontroll-Gruppe sinkt die Anzahl um 0,01 ($\times 10^9/l$) statistisch nicht signifikant ab ($p^{\#}=0,076$). Der Anteil der basophilen Granulozyten an der Gesamtleukozytenzahl liegt ebenfalls in beiden Gruppen zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 im Referenzbereich. Es sind in keiner der beiden Gruppen statistisch signifikante Veränderungen der Werte zwischen Tag 0 und Tag 28 sichtbar.

Tabelle 50: Leukozytenanzahl und Differentialblutbild der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II).

Weißes Blutbild	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
Leukozytenzahl (x 10 ⁹ /l)	8,18±1,90	8,14±3,34	8,43±2,38	10,74±3,61
Neut. Granuloz. relativ (%)	52,45±9,84	48,84±12,69	54,44±16,29	56,80±11,45
Neut. Granuloz abs. (x 10 ⁹ /l)	4,28±1,27	3,82±1,65	4,40±1,32	6,30±3,16
Lymphozyten relativ (%)	32,75±8,44	36,02±14,13	32,03±17,81	29,03±7,08
Lymphozyten abs. (x 10 ⁹ /l)	2,68±0,97	3,10±2,04	2,96±2,24	2,96±0,64
Monozyten Relativ (%)	4,94±1,18	4,91±2,33	4,66±1,90	5,50±2,17
Monozyten abs. (x 10 ⁹ /l)	0,39±0,10	0,36±0,14	0,39±0,18	0,58±0,29
Eos. Granuloz. relativ (%)	9,39±3,84	10,01±2,89	8,44±4,73	8,36±5,10
Eos. Granuloz. abs. (x 10 ⁹ /l)	0,80±0,47	0,85±0,55	0,65±0,22	0,86±0,55
Baso. Granuloz. relativ (%)	0,40±0,52	0,24±0,15	0,46±0,34	0,32±0,29
Baso. Granuloz. abs. (x 10 ⁹ /l)	0,03±0,02	0,02±0,02	0,04±0,03	0,04±0,05

*: signifikanter Unterschied (p<0,05) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe,
Prüfgröße delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied (p<0,05) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

Abkürzungen: Neut. Granuloz = neutrophile Granulozyten, abs. =absolut,

Eos. Granuloz.= eosinophile Granulozyten, Baso. Granuloz.= basophile Granulozyten

Die zur Überwachung von Narkoseschäden untersuchten Serumwerte Harnstoff, Kreatinin und Fructosamin lagen innerhalb der Referenzbereiche, bzw. nur unbedeutend darüber oder darunter.

4.2.3 Maulhöhlenparameter

4.2.3.1 Halitose

Die Erfassung des Maulhöhlengeruchs (Halitose) der Katzen erfolgte durch die organoleptische Beurteilung und durch die Messung von flüchtigen Schwefelkomponenten mit dem Halimeter® (Tabelle 51).

Bei der organoleptischen Beurteilung der Halitose konnte in der EGCG-Gruppe eine statistisch nicht signifikante Reduzierung der Werte von $1,56 \pm 0,73$ auf $1,11 \pm 0,33$ beobachtet werden. Die Werte für die Kontrollgruppe waren an Tag 0 und Tag 28 identisch.

Bei der Messung der Halitose mit dem Halimeter® blieben die Werte der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe zwischen den Messzeitpunkten Tag 0 und Tag 28 nahezu unverändert. Statistisch signifikante Veränderungen konnten nicht festgestellt werden.

Tabelle 51: Mittlere Halitose-Werte der organoleptischen Messung (Grad 0-3) und der Messung mit dem Halimeter® (in ppm) der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe) zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Messung	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
Organoleptisch (Grad 0-3)	$1,44 \pm 0,53$	$1,44 \pm 0,53$	$1,56 \pm 0,73$	$1,11 \pm 0,33$
Halimeter® (ppm)	$70,78 \pm 14,53$	$73,56 \pm 32,10$	$82,78 \pm 23,76$	$84,33 \pm 33,47$

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe,
Prüfgröße delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.2.3.2 Gingivitisindex

Zur Beurteilung des Entzündungsgrades des Zahnfleisches wurde der Gingivitisindex an 12 Zähnen pro Katze gemessen.

Wie aus der Tabelle 52 zu ersehen ist, zeigt der mittlere Gingivitisindex der EGCG- und der Kontrollgruppe zwischen Tag 0 und Tag 28 keine statistisch signifikante Veränderung. Die Gingivitisindices beider Gruppen bleiben zwischen Tag 0 und Tag 28 nahezu gleich.

Bei Betrachtung der Indices der verschiedenen Zähne kann in beiden Gruppen eine Tendenz zu niedrigem Gingivitisindex (durchschnittlicher Wert 0,6) an den rechten und linken 4. Prämolaren und 1. Molaren des Unterkiefers (Zähne 308, 309; 408, 409) festgestellt werden.

Tabelle 52: Mittlerer Gingivitisindex GI ($\bar{x}\pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Zahn	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
204	0,85±0,27	0,96±0,22	0,93±0,26	1,02±0,27
207	0,72±0,24	0,91±0,24	0,96±0,22	1,04±0,25
208	0,98±0,27	1,00±0,25	0,91±0,37	0,93±0,12
304	1,09±0,57	1,24±0,42	1,09±0,50	1,11±0,29
308	0,50±0,36	0,46±0,27	0,56±0,28	0,35±0,21
309	0,65±0,39	0,85±0,60	0,61±0,17	0,50±0,29
104	0,83±0,25	1,04±0,32	1,19±0,52	1,06±0,42
107	0,78±0,26	0,76±0,35	0,83±0,25	0,78±0,26
108	0,98±0,26	0,80±0,41	0,78±0,26	0,89±0,22
404	1,04±0,62	1,13±0,63	0,89±0,51	0,93±0,36
408	0,54±0,27	0,56±0,36	0,50±0,26	0,54±0,22
409	0,82±0,24	0,87±0,70	0,69±0,21	0,70± 0,32
Maulhöhle	0,82±0,15	0,88±0,25	0,83±0,17	0,82±0,11

*: signifikanter Unterschied ($p<0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe, Prüfgröße delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p<0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.2.3.3 Sondierungstiefe

Die Sondierungstiefe (in mm) wird bestimmt, um die Tiefe des gingivalen Sulcus bzw. der entstandenen Zahnfleischtaschen auszumessen.

Die Tabelle 53 zeigt, dass die Mittelwerte der Sondierungstiefen aller beurteilten Zähne sich in der Kontrollgruppe zwischen den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 nur um 7% verringern. In der EGCG-Gruppe ist eine Reduktion der Sondierungstiefe von Tag 0 auf Tag 28 um 12% erkennbar. Keine dieser Veränderungen ist statistisch signifikant. An zwei Zähnen (Caninus, Oberkiefer, links und Prämolare 3, Oberkiefer, rechts (Zähne 204 und 107)) der EGCG-Gruppe ist eine statistisch signifikante Verringerung der Sondierungstiefe von Tag 0 auf Tag 28 sichtbar. Bei Betrachtung der Sondierungstiefen der verschiedenen Zähne kann eine Tendenz zu geringer Sondierungstiefe an den rechten und linken 4. Prämolaren des Unterkiefers (Zähne 308; 408) festgestellt werden.

Tabelle 53: Mittlere Sondierungstiefe PD (x±s) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle in mm von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Zahn	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
204	1,22±0,44	1,16±0,48	1,07±0,15	0,91±0,12 [#]
207	1,05±0,19	1,04±0,30	1,09±0,25	0,98±0,21
208	1,04±0,11	1,13±0,26	1,35±0,53	1,44±0,43
304	2,00±1,06	1,91±0,99	2,15±1,09	1,69±0,81
308	0,87±0,37	0,72±0,31	0,87±0,29	0,65±0,58
309	1,00±0,33	0,78±0,25	1,02±0,13	0,91± 0,19
104	1,70±0,91	1,54±1,03	1,89±1,39	1,81±1,53
107	1,04±0,20	0,85±0,32	1,18±0,17	0,85±0,27 [#]
108	1,18±0,34	1,11±0,45	1,26±0,28	1,20±0,39
404	1,80±1,32	1,69±1,32	1,37±0,74	1,09±0,42
408	0,61±0,36	0,56±0,20	0,33±0,28	0,37±0,29
409	1,00±0,33	0,91±0,32	0,91±0,22	0,80±0,20
Maulhöhle	1,21±0,29	1,12±0,30	1,21±0,24	1,06±0,19

*: signifikanter Unterschied (p<0,05) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe, Prüfgröße delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied (p<0,05) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.2.3.4 Mobilitätsindex

Der Mobilitätsindex wird bestimmt, um die Beweglichkeit des Zahnes im Zahnfach zu beurteilen. Der in Tabelle 54 dargestellte Mobilitätsindex ist sowohl in der EGCG- als auch in der Kontrollgruppe zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 nahezu null. Es konnte lediglich eine geringe Mobilität (Grad 1) an vereinzelt Zählen festgestellt werden. Statistisch signifikante Veränderungen der Mobilität zwischen den Messzeitpunkten sind in beiden Gruppen nicht erkennbar.

Tabelle 54: Mittlerer Mobilitätsindex MI ($\bar{x}\pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Zahn	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
204	0,11±0,33	0,00±0,00	0,11±0,33	0,22±0,67
207	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
208	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
304	0,00±0,00	0,00±0,00	0,11±0,33	0,00±0,00
308	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
309	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
104	0,00±0,00	0,11±0,33	0,00±0,00	0,11±0,33
107	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
108	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
404	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,11±0,33
408	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
409	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Maulhöhle	0,01±0,03	0,01±0,03	0,02±0,04	0,04±0,11

*: signifikanter Unterschied ($p<0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe, Prüfgröße delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p<0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.2.3.5 Furkationsindex

Der mittlere Furkationsindex der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe war im Versuch II zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 jeweils 0. Aus diesem Grund wird auf eine Darstellung der Werte für die einzelnen Zähne in tabellarischer Form verzichtet.

4.2.3.6 Plaqueindex

Der Plaqueindex wird zur Erfassung der Plaque-Neubildung nach der Zahnreinigung („clean tooth“-Modell) bestimmt. Wie aus der Tabelle 55 ersichtlich ist, war der Plaqueindex zum Zeitpunkt Tag 0 durch die vorangegangene Plaqueentfernung gleich 0 (Kontrolle durch Aufbringen von Mira-2-Ton-Lösung). Aus diesem Grund wurde auf eine statistische Untersuchung der Veränderungen innerhalb der Gruppen zwischen Tag 0 und Tag 28 verzichtet und stattdessen nur die Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt Tag 28 untersucht. Der Plaqueindex der EGCG-Gruppe war zum Zeitpunkt Tag 28 um 3% geringer als in der Kontrollgruppe. Es ist kein statistisch signifikanter Unterschied des Plaqueindex an Tag 28 zwischen den Gruppen erkennbar.

Bei Betrachtung der Plaqueindices der verschiedenen Zähne kann in beiden Gruppen eine Tendenz zu niedrigen Plaqueindices (Plaqueindex-Werte alle $<6,6$, durchschnittlicher Wert 5,8) an den Canini des Unterkiefers (Zähne 304; 404) festgestellt werden. Des Weiteren sind die 4. Prämolaren des Unterkiefers (Zähne 308, 408) weniger von Plaque betroffen (Plaqueindex-Werte alle $\leq 8,8$, durchschnittlicher Wert 7).

Tabelle 55: Mittlerer Plaqueindex PI ($\bar{x}\pm s$) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Zahn	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
204	0,00±0,00	11,11±4,40	0,00±0,00	9,00±3,84
207	0,00±0,00	12,11±5,46	0,00±0,00	12,22± 4,55
208	0,00±0,00	14,56±4,56	0,00±0,00	13,67±2,65
304	0,00±0,00	5,56±2,60	0,00±0,00	5,11±3,02
308	0,00±0,00	4,11±2,71	0,00±0,00	6,89±3,44
309	0,00±0,00	8,44±3,40	0,00±0,00	10,00±4,21
104	0,00±0,00	13,89±5,49	0,00±0,00	9,44±4,03
107	0,00±0,00	12,89±4,23	0,00±0,00	11,89±4,43
108	0,00±0,00	16,11±5,28	0,00±0,00	16,00±3,87
404	0,00±0,00	6,11±2,42	0,00±0,00	6,56±2,46
408	0,00±0,00	8,89±4,51	0,00±0,00	8,11±3,14
409	0,00±0,00	13,11±3,33	0,00±0,00	11,11±3,18
Maulhöhle	0,00±0,00	10,41±1,12	0,00±0,00	10,02±1,43

*: signifikanter Unterschied ($p<0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe, Prüfgröße delta Tag 0 - Tag 28

4.2.3.7 Zahnsteinindex

Der Zahnsteinindex wird zur Erfassung der Zahnstein-Neubildung nach der Zahnsteinentfernung („clean-tooth“-Modell) bestimmt. Wie aus der Tabelle 56 ersichtlich, ist der Zahnsteinindex zum Zeitpunkt Tag 0 durch die vorausgegangene Zahnsteinentfernung 0. Aus diesem Grund wurde auf eine statistische Untersuchung der Veränderungen innerhalb der Gruppen zwischen Tag 0 und Tag 28 verzichtet und stattdessen nur die Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt Tag 28 untersucht. Die Zahnsteinindices der EGCG- und der Kontrollgruppe unterscheiden sich zum Zeitpunkt Tag 28 nicht statistisch signifikant ($p=0,065$). Der Zahnsteinindex der EGCG-Gruppe an Tag 28 ist jedoch um 36% niedriger als der der Kontrollgruppe.

Bei Betrachtung der mittleren Zahnsteinindices der verschiedenen Zähne kann in beiden Gruppen eine Tendenz zur verstärkten Zahnsteinbildung (durchschnittlicher Wert 5,4) an den 3. und 4. Prämolaren des Oberkiefers festgestellt werden (Zähne 107, 108; 207, 208).

Tabelle 56: Mittlerer Zahnsteinindex CI (x±s) der einzelnen Zähne sowie der gesamten Maulhöhle von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe (n=9 je Gruppe), zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Zahn	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
204	0,00±0,00	4,22±2,54	0,00±0,00	4,33±1,80
207	0,00±0,00	6,00±3,35	0,00±0,00	3,00±2,83
208	0,00±0,00	7,33±2,83	0,00±0,00	5,67±2,83
304	0,00±0,00	0,78±0,97	0,00±0,00	0,44±0,53
308	0,00±0,00	1,00±2,00	0,00±0,00	0,33± 0,50
309	0,00±0,00	0,67±0,87	0,00±0,00	1,00±1,58
104	0,00±0,00	3,67±1,87	0,00±0,00	4,33±3,57
107	0,00±0,00	6,78±4,47	0,00±0,00	2,56±2,24
108	0,00±0,00	7,44±3,40	0,00±0,00	4,44±3,28
404	0,00±0,00	1,00±0,87	0,00±0,00	0,56±0,53
408	0,00±0,00	1,22±1,64	0,00±0,00	0,11±0,33
409	0,00±0,00	1,78±3,19	0,00±0,00	0,11±0,33
Maulhöhle	0,00±0,00	3,49±1,53	0,00±0,00	2,24±1,12

*: signifikanter Unterschied (p<0,05) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe, Prüfgröße delta Tag 0 - Tag 28

4.2.4 Bakteriologische Untersuchung

Bei den bakteriologischen Untersuchungen handelt es sich um qualitative Untersuchungen. Eine statistische Auswertung der Ergebnisse wurde deshalb nicht durchgeführt. Die prozentuale Darstellung der Verteilung der isolierten Bakterienstämme auf acht Kategorien wurde nur zur Verbesserung der Übersichtlichkeit gewählt, es handelt sich dabei nicht um quantitative Aussagen. Die Zusammenstellungen der isolierten Bakterien sind nicht nach dem Ursprung der Bakterien (Tupfer-Suspension oder Rosenow-Bouillon) getrennt aufgeführt.

4.2.4.1 Vergleich der Maulhöhlenflora an Tag 0 mit Tag 28

In den folgenden Tabellen und Abbildungen wird die Maulhöhlenflora, die zum Zeitpunkt Tag 0 isoliert wurde, der Maulhöhlenflora, die zum Zeitpunkt Tag 28 isoliert wurde, bei vier Katzen gegenübergestellt.

4.2.4.1.1 Katzen der Kontrollgruppe

Katze 1

Das Verhältnis zwischen aeroben und anaeroben Bakterien ist zum Zeitpunkt Tag 0 bei der Katze 1 ca. 70:30. Diese Verteilung hat sich an Tag 28 zugunsten der Anaerobier auf 60:40 geändert (Abbildung 24 und Abbildung 25).

Zu beiden Zeitpunkten kommen alle vier Kategorien aerober Bakterien vor, dagegen waren von den Anaerobiern nur grampositive und gramnegative Stäbchen zu isolieren. Anaerobe Kokken kommen bei Katze 1 zu keinem der Zeitpunkte in Versuch II vor.

Zum Zeitpunkt Tag 0 überwiegen in der aeroben Flora die gramnegativen Stäbchen. Dies ändert sich an Tag 28, die isolierten aeroben Bakterien verteilen sich gleichmäßig auf die vier Kategorien.

Von den anaeroben Stäbchen sind an Tag 0 die gramnegativen wesentlich stärker vertreten als die grampositiven, an Tag 28 sind die anaeroben grampositiven Stäbchen mit 50% der gesamten isolierten Bakterien die am häufigsten isolierten Bakterien zu diesem Zeitpunkt überhaupt.

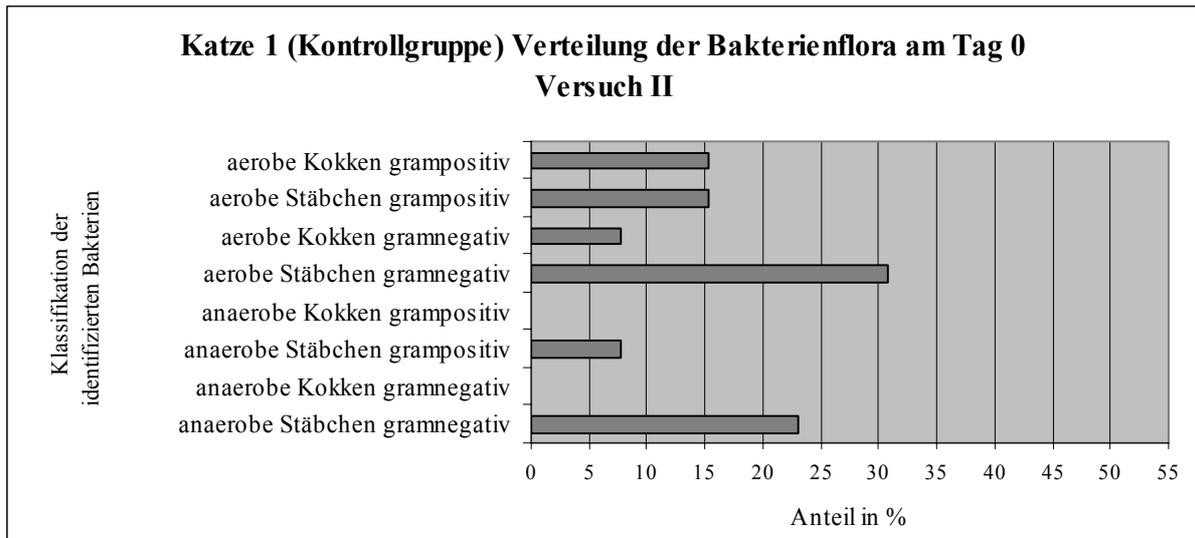


Abbildung 24: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 1 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch II)

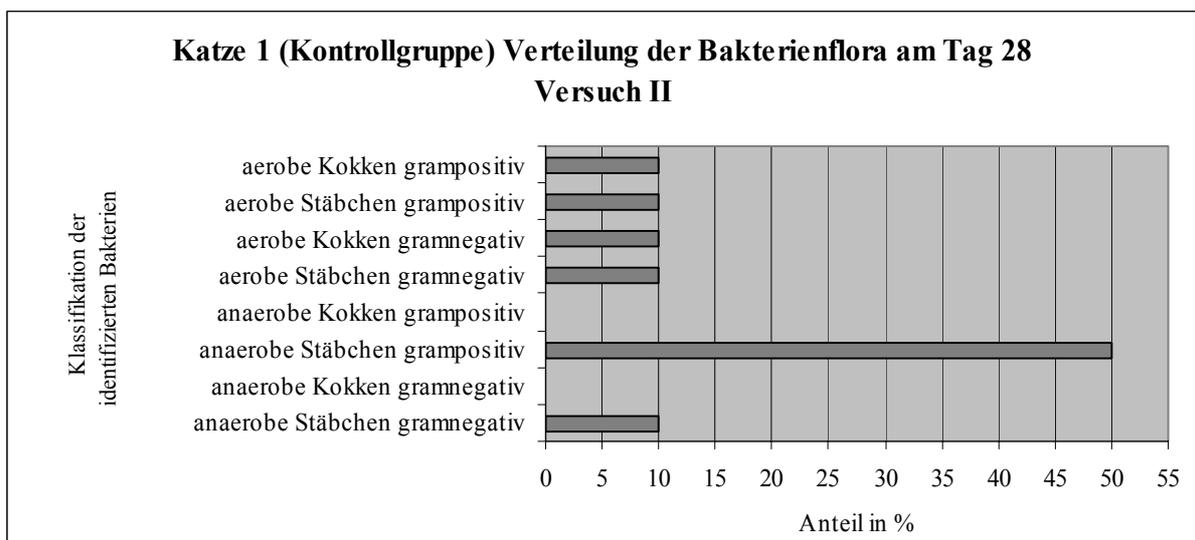


Abbildung 25: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 1 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch II)

Tabelle 57: Katze 1 (Kontrollgruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend

Aerobier	Katze 1 Tag 0	Katze 1 Tag 28
Kokken grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Kocuria kristinae • Micrococcus lylae 	<ul style="list-style-type: none"> • Streptococcus saliv. salivarius
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Cellulomonas sp. • Corynebacterium sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Listeria grayi
Kokken gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Neisseria cinera 	<ul style="list-style-type: none"> • Neisseria sp.
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Moraxella sp. • Pasteurella multocida • Pasteurella sp • Weeksella virosa 	<ul style="list-style-type: none"> • Pasteurella sp.
Anaerobier	Katze 1 Tag 0	Katze 1 Tag 28
Kokken grampositiv		
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Propionibacterium acnes 	<ul style="list-style-type: none"> • Bifidobacterium sp. • Clostridium sporogenes • Eubacterium lentum • Lactobacillus fermentum • Propionibacterium acnes
Kokken gramnegativ		
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Fusobacterium mortiferum • Porphyromonas asaccharolytica • Prevotella melaninogenica/oralis 	<ul style="list-style-type: none"> • Prevotella melaninogenica/oralis

Aus der Tabelle 57 ist ersichtlich, dass die aerobe Flora an Tag 0 deutlich artenreicher ist als an Tag 28. Aerobier, die zu beiden Zeitpunkten vorkommen, sind neben Pasteurella Spezies die bei der Erhebung des Grundstatus selten isolierten Neisseria Spezies.

Die Anaerobe Flora ist an Tag 28 artenreicher als an Tag 0. Anaerobier, die zu beiden Zeitpunkten vorkommen, sind Propionibacterium acnes und Prevotella melaninogenica/oralis.

Katze 4

Aus der Abbildung 26 ist ersichtlich, dass sich die Bakterienflora der Katze 4 am Tag 0 zu 73% aus aeroben und zu 27% aus anaeroben Bakterien zusammensetzt. Dieses Verhältnis ist am Zeitpunkt Tag 28 ähnlich, hier wurden 75% aerobe Bakterien und 25% anaerobe Bakterien isoliert (Abbildung 27). Weder an Tag 0 noch an Tag 28 konnten anaerobe gramnegative Kokken isoliert werden. Die aeroben gramnegativen Stäbchen nehmen mit 27% an Tag 0 einen großen Teil der aeroben Flora ein, an Tag 28 konnten diese Keime nicht mehr

isoliert werden. Dafür nimmt der Anteil der grampositiven Kokken an der Gesam flora an Tag 28 deutlich (um 15%) zu.

Die anaeroben Keime, die zum Zeitpunkt Tag 0 isoliert wurden sind alle Stäbchen. Gramnegative Stäbchen wurden doppelt so häufig (18%) isoliert wie grampositive. An Tag 28 wurden neben den anaeroben Stäbchen auch grampositive anaerobe Kokken isoliert. Die Bakterien verteilen sich gleichmäßig mit jeweils 9% auf die vier verschiedenen Kategorien.

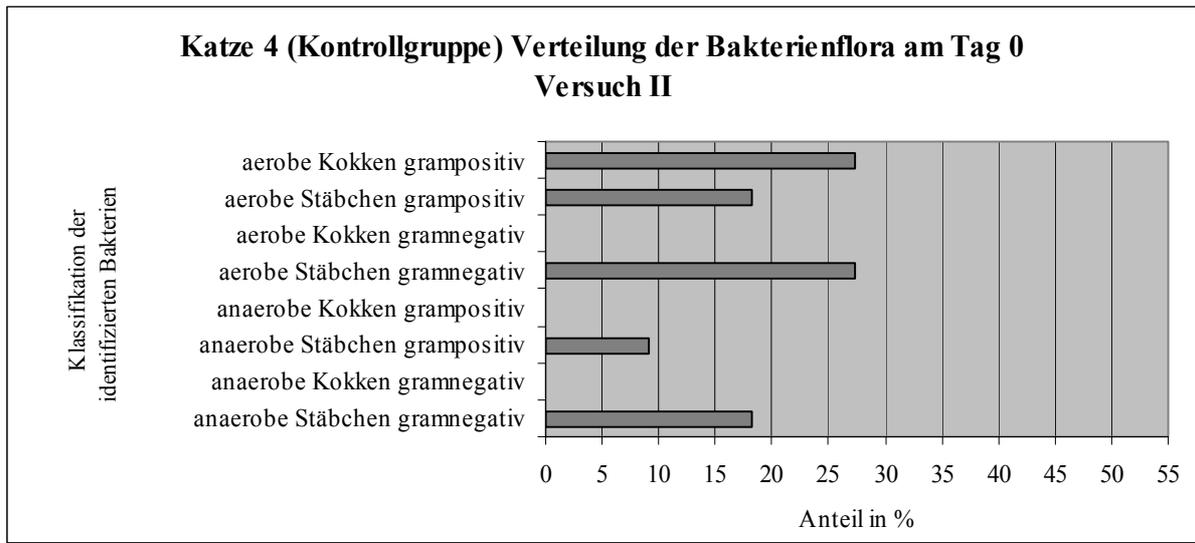


Abbildung 26: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 4 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch II)

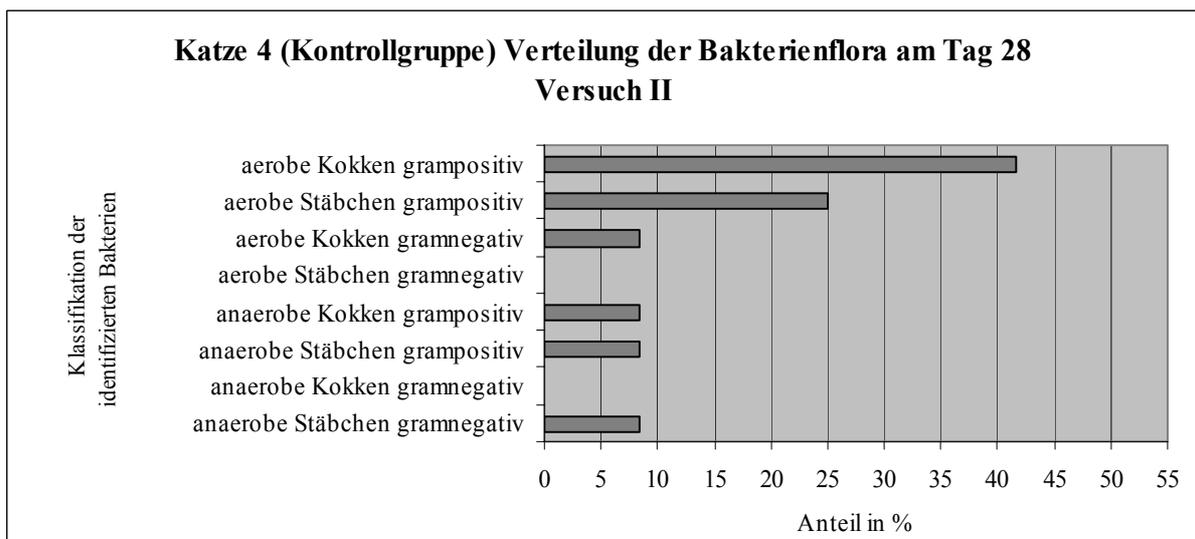


Abbildung 27: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 4 (Kontrollgruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch II)

Tabelle 58: Katze 4 (Kontrollgruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend

Aerobier	Katze 4 Tag 0	Katze 4 Tag 28
Kokken grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Dermatococcus nishinomiyaens • Staphylococcus simulans • Streptococcus suis I 	<ul style="list-style-type: none"> • koagulasenegative Staphylokokken • Micrococcus luteus • Stomatococcus mucilaginosus • Streptococcus suis II • vergrünende Streptokokken
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Brevibacterium sp. • Corynebacterium sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacillus sp. • Corynebacterium sp. • Streptomyces sp.
Kokken gramnegativ		
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Moraxella sp. • Pasteurella multocida • Pasteurella sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Pasteurella sp.
Anaerobier	Katze 4 Tag 0	Katze 4 Tag 28
Kokken grampositiv		<ul style="list-style-type: none"> • Streptococcus constellatus
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Propionibacterium acnes 	<ul style="list-style-type: none"> • Lactobacillus acidophilus
Kokken gramnegativ		
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Bacteroides stercoris • Fusobacterium necrophorum 	

In der Tabelle 58 ist erkennbar, dass die Artenvielfalt zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 annähernd gleich groß ist.

Folgende aerobe Bakterien kommen zu beiden Zeitpunkten vor: Staphylokokkus-, Streptokokkus-, Pasteurella und Corynebacterium-Spezies

Von den anaeroben Bakterien konnte kein Keim an beiden Zeitpunkten isoliert werden.

4.2.4.1.2 Katzen der (-)-Epigallocatechingallat-Gruppe

Katze 11

Aus der Abbildung 28 ist ersichtlich, dass das Verhältnis der isolierten aeroben zu anaeroben Spezies am Tag 0 77% zu 23% beträgt. Zum Zeitpunkt Tag 28 (Abbildung 29) überwiegen ebenfalls die Aerobier, die Anaerobier nehmen jetzt aber einen größeren Anteil ein (69% zu 31%).

Gramnegative Kokken wurden weder an Tag 0 noch an Tag 28 isoliert.

Zu beiden Zeitpunkten wurden jeweils 31% aerobe gramnegative Stäbchen und 23% aerobe grampositive Kokken isoliert. Die Verringerung des Anteils an aeroben Bakterien ist auf eine verminderte Isolation von grampositiven Stäbchen zurückzuführen (15% statt 23%) Zum

Zeitpunkt Tag 0 konnte nur eine Kategorie von Anaerobiern isoliert werden: grampositive anaerobe Stäbchen. An Tag 28 wurden außer gramnegativen Kokken alle Kategorien von Anaerobiern isoliert. Die grampositiven Stäbchen und Kokken nehmen jeweils 8% ein, die gramnegativen mit 15% beinahe doppelt so viel.

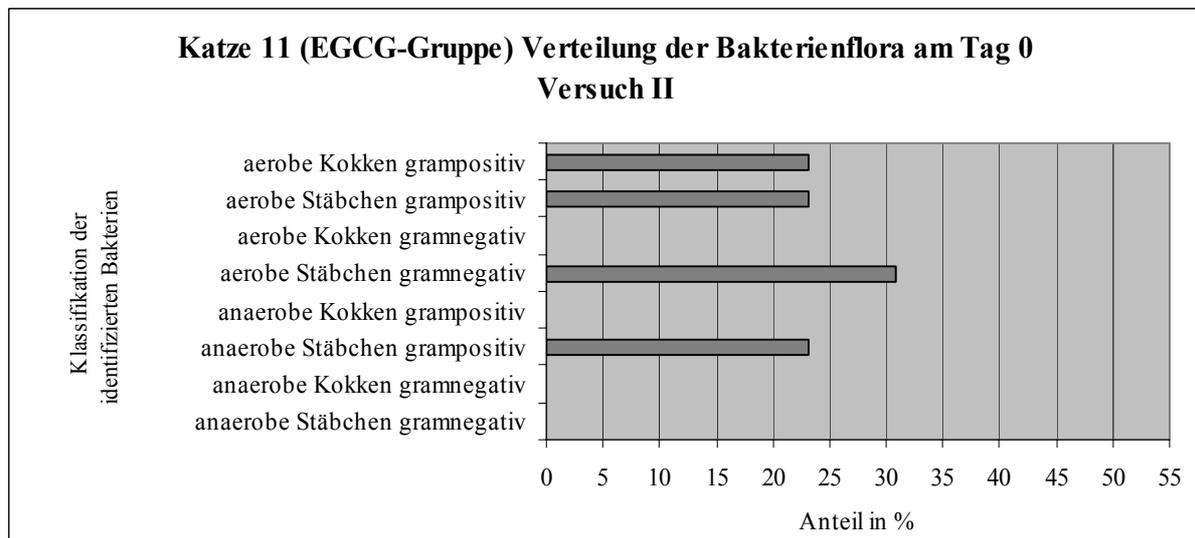


Abbildung 28: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 11 (EGCG-Gruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch II)

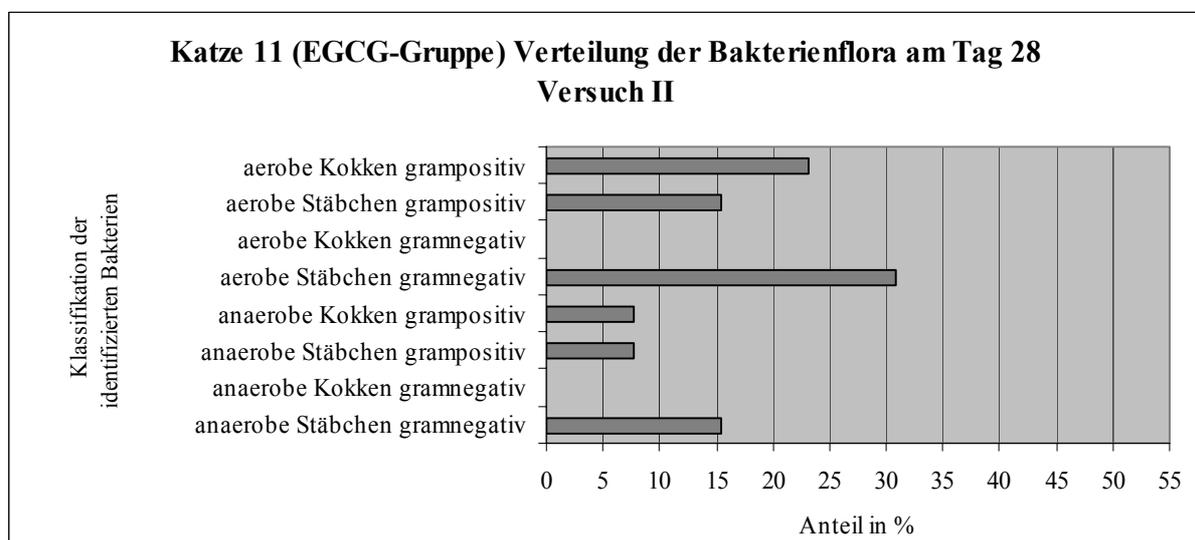


Abbildung 29: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 11 (EGCG-Gruppe) auf die acht verschiedenen Kategorien in % (Versuch II)

Tabelle 59: Katze 11 (EGCG-Gruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend

Aerobier	Katze 11 Tag 0	Katze 11 Tag 28
Kokken grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Aerococcus viridans</i> • <i>Staphylococcus chromogenes</i> • <i>Streptococcus suis</i> I 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Gemella morbillorum</i> • <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Staphylococcus simulans</i>
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Brevibacterium</i> sp. • <i>Corynebacterium</i> -group G • <i>Corynebacterium</i> sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Brevibacterium</i> sp. • <i>Cellulomonas</i> sp.
Kokken gramnegativ		
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Brevundimonas vesicularis</i> • <i>Moraxella</i> sp. • <i>Pasteurella</i> sp. • <i>Sphingomonas paucimobilis</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Moraxella</i> sp. • Nonfermenter • <i>Pasteurella (Mannheimia) haemol.</i> • <i>Pasteurella multocida</i>
Anaerobier	Katze 11 Tag 0	Katze 11 Tag 28
Kokken grampositiv		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Peptostreptococcus</i> sp.
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Eubacterium lentum</i> • <i>Propionibacterium acnes</i> • <i>Propionibacterium propionicum</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Eubacterium lentum</i>
Kokken gramnegativ		
Stäbchen gramnegativ		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Fusobacterium</i> sp. • <i>Porphyromonas asaccharolytica</i>

Aus der Tabelle 59 ist ersichtlich, dass die Artenvielfalt an Tag 0 und Tag 28 etwa gleich groß bleibt. Von den aeroben Keimen kommen zu beiden Zeitpunkten folgende Spezies vor: Staphylokokkus-, Brevibacterium-, Moraxella- und Pasteurella Spezies.

Von den anaeroben Keimen wurde nur *Eubacterium lentum* zu beiden Zeitpunkten isoliert.

Katze 12

Abbildung 30 zeigt, dass die Bakterienflora der Katze 12 zum Zeitpunkt Tag 0 zu 75% aus aeroben Bakterien und zu 25% aus anaeroben Bakterien besteht. Dieses Verhältnis hat sich am Tag 28 zu Gunsten der Anaerobier verschoben, es wurden 55% Aerobier und 45% Anaerobier isoliert (Abbildung 31).

Aerobe gramnegative Kokken konnten zu keinem Zeitpunkt isoliert werden.

An Tag 0 nehmen die grampositiven Stäbchen den größten Anteil der aeroben Flora ein, an Tag 28 sind es die grampositiven Kokken. Aerobe gramnegative Stäbchen konnten sowohl an

Tag 0 als auch an Tag 28 isoliert werden, der Anteil an der Gesamtf flora ist aber an Tag 28 um 7% geringer.

Von den Anaerobiern wurden an Tag 0 nur grampositive Stäbchen (17%) und gramnegative Kokken isoliert (8%). An Tag 28 konnten keine gramnegativen Kokken mehr isoliert werden, dafür aber gramnegative Stäbchen mit 18%. Der Anteil der grampositiven Stäbchen nahm auf 27% zu.

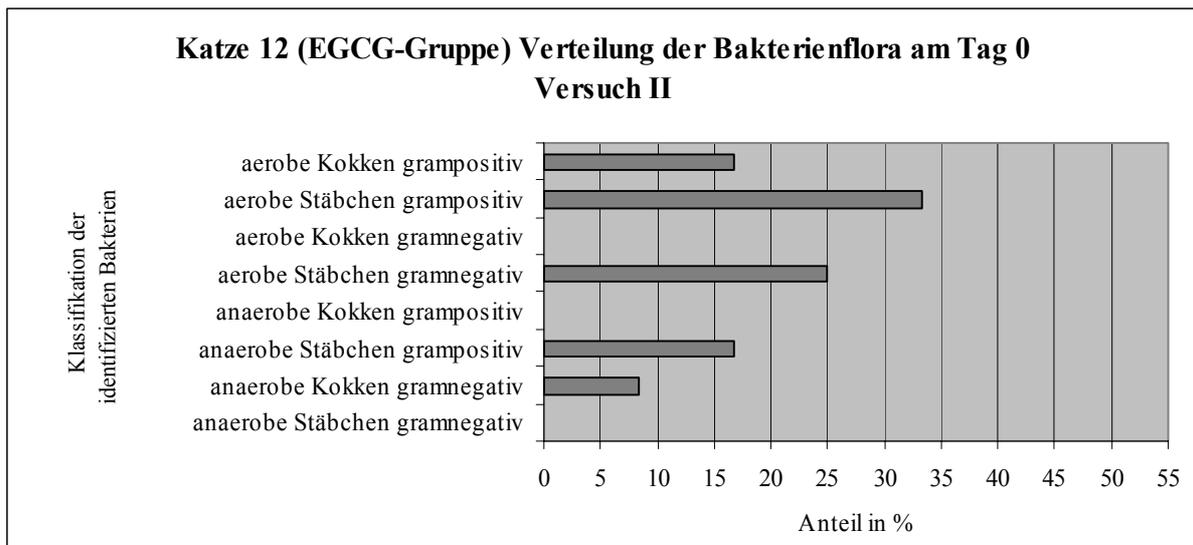


Abbildung 30: Zeitpunkt Tag 0, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 12 (EGCG-Gruppe) auf die 8 verschiedenen Kategorien in % (Versuch II)

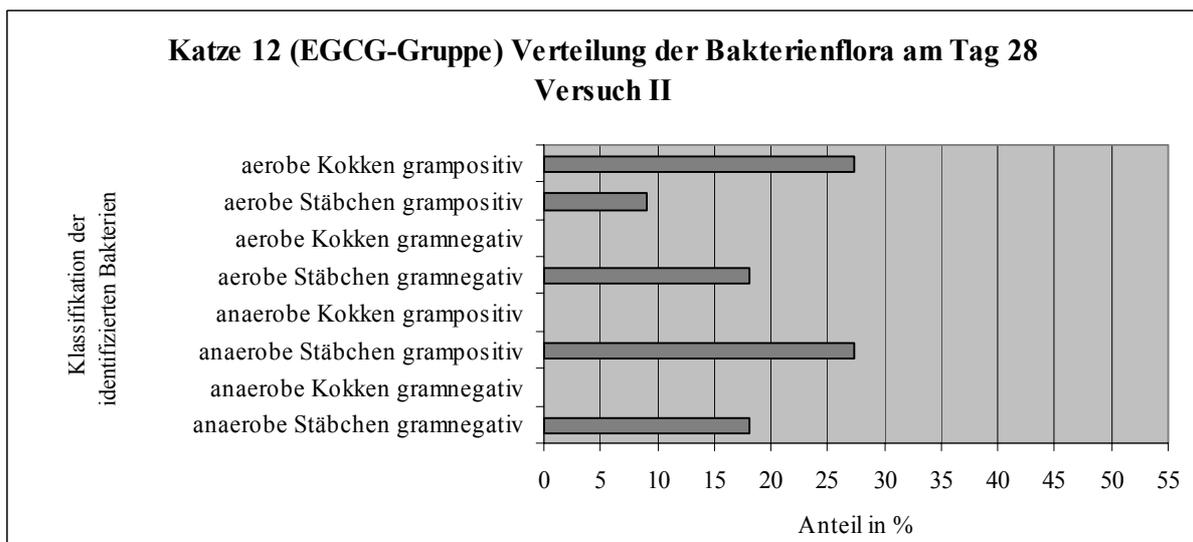


Abbildung 31: Zeitpunkt Tag 28, Verteilung der isolierten Bakterien der Katze 12 (EGCG-Gruppe) auf die 8 verschiedenen Kategorien in % (Versuch II)

Tabelle 60: Katze 12 (EGCG-Gruppe), Bakterienflora zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 vergleichend

Aerobier	Katze 12 Tag 0	Katze 12 Tag 28
Kokken grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Micrococcus lylae • Micrococcus sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Micrococcus lylae • Staphylococcus capitis • vergrünende Streptokokken
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Arthrobacter sp. • Brevibacterium sp. • Cellulomonas sp. • Corynebacterium sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Cellulomonas sp.
Kokken gramnegativ		
Stäbchen gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Comomonas testosteroni • Moraxella sp. • Pasteurella sp. 	<ul style="list-style-type: none"> • Moraxella sp. • Pasteurella sp.
Anaerobier	Katze 12 Tag 0	Katze 12 Tag 28
Kokken grampositiv		
Stäbchen grampositiv	<ul style="list-style-type: none"> • Bifidobacterium sp. • Eubacterium lentum 	<ul style="list-style-type: none"> • Eubacterium lentum • Lactobacillus fermentum • Propionibacterium acnes
Kokken gramnegativ	<ul style="list-style-type: none"> • Veilonella sp. 	
Stäbchen gramnegativ		<ul style="list-style-type: none"> • Porphyromonas asaccharolytica • Prevotella melaninogenica/oralis

Wie der Tabelle 60 zu entnehmen ist, konnte zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 eine ähnlich große Artenvielfalt isoliert werden.

Von den aeroben Bakterien kommen folgende zu beiden Zeitpunkten vor: Micrococcus-, Cellulomonas -, Moraxella- und Pasteurella-Spezies

Von den anaeroben Bakterienstämmen kommt nur Eubacterium lentum zu beiden Zeitpunkten vor.

Anaerobe gramnegative Kokken wurden bei den Versuchskatzen nur sehr selten isoliert. Bei der Katze 12 konnte jedoch an Tag 0 Veilonella sp. isoliert werden.

4.2.4.2 In-vitro-Untersuchung der antibakteriellen Aktivität von (-)-Epigallocatechingallat

Ergebnisse der Vorversuche:

- a) Um Veränderungen (z. B. Verfärbungen) des Blutagars durch EGCG festzustellen, wurde ein Tropfen einer EGCG-Lösung auf eine Blutagarplatte aufgebracht. Nach 48 stündiger Bebrütung bei 37°C konnten folgende Veränderung des Nährbodens

festgestellt werden: Der Blutagar verfärbt sich von schwarzgrün über grau bis braun, je nach EGCG-Konzentration und Bebrütungsart und -dauer. Untersuchungen des Nährbodens unter dem Mikroskop (Quetschpräparat mit NaCl) ergaben jedoch keinen sichtbaren Unterschied gegenüber dem nativen Nährboden.

- b) Um eine Hemmwirkung des EGCG auf die Maulhöhlenflora der Katzen zu untersuchen, wurde ein Tropfen einer 13%igen EGCG-Lösung auf zwei Blutagarplatten ausgebracht. Die Blutagarplatten waren zuvor mit ca. 10 µl aus der Tupfer-Suspension von einer der Versuchskatzen bestrichen worden. Nach der aeroben und anaeroben Bebrütung konnte eine deutliche Hemmwirkung des EGCG auf das Bakterienwachstum festgestellt werden.

Ergebnisse des Hauptversuches:

EGCG wurde in verschiedenen Konzentrationen auf Blutagarplatten auf seine Hemmwirkung gegenüber der Maulhöhlenflora der Katzen untersucht. Wie aus der Tabelle 61 und den Abbildungen 32 und 33 ersichtlich ist, konnte bei einer Konzentration von 13 mg/100 µl eine deutliche Hemmhofbildung auf den anaeroben und aeroben Platten erreicht werden. Bei einer Konzentration von 1,3 mg/100 µl konnte ebenfalls eine deutliche Hemmhofbildung beobachtet werden, die Hemmhofgröße war jedoch geringer als bei der Konzentration 13 mg /100 µl. In den Konzentrationen 0,13 und 0,013 mg /100 µl konnte keine Hemmhofbildung festgestellt werden.

Tabelle 61: Untersuchung der Wachstumshemmung von Mischkulturen aus der Tupfer-Suspension und der Rosenow-Bouillon auf Blutagar durch EGCG bei aerober und anaerober Bebrütung

EGCG-Menge (mg/100µl)	Herkunft der Bakterien	Bebrütung der Platten	Beschreibung des Wachstums
0 (Kontrolle)	Rosenow- Bouillon	aerob	Artenarme Flora, dichtes Wachstum
		anaerob	Artenarme Flora, dichtes Wachstum
	Tupfer- Suspension	aerob	Mischflora, dichtes Wachstum
		anaerob	Mischflora, dichtes Wachstum

Fortsetzung Tabelle Tabelle 61

13	Rosenow- Bouillon	aerob	Artenarme Flora, dichtes Wachstum, Hemmhof 9 mm
		anaerob	Artenarme Flora, dichtes Wachstum, Hemmhof 12 mm
	Tupfer- Suspension	aerob	Mischflora, dichtes Wachstum, Hemmhof 12 mm
		anaerob	Mischflora, dichtes Wachstum, Hemmhof 12 mm
1,3	Rosenow- Bouillon	aerob	Artenarme Flora, dichtes Wachstum, Hemmhof 6 mm
		anaerob	Artenarme Flora, dichtes Wachstum, Hemmhof 7 mm
	Tupfer- Suspension	aerob	Mischflora, dichtes Wachstum Hemmhof 6 mm
		anaerob	Mischflora, dichtes Wachstum, Hemmhof 7 mm
0,13	Rosenow- Bouillon	aerob	Artenarme Flora, dichtes Wachstum, kein Hemmhof
		anaerob	Artenarme Flora, dichtes Wachstum, kein Hemmhof
	Tupfer- Suspension	aerob	Mischflora , dichtes Wachstum Hemmhof 1 mm/keiner
		anaerob	Mischflora, dichtes Wachstum, kein Hemmhof
0,013	Rosenow- Bouillon	aerob	Artenarme Flora, dichtes Wachstum, kein Hemmhof
		anaerob	Artenarme Flora, dichtes Wachstum, kein Hemmhof
	Tupfer- Suspension	aerob	Mischflora, dichtes Wachstum kein Hemmhof
		anaerob	Mischflora, dichtes Wachstum, kein Hemmhof

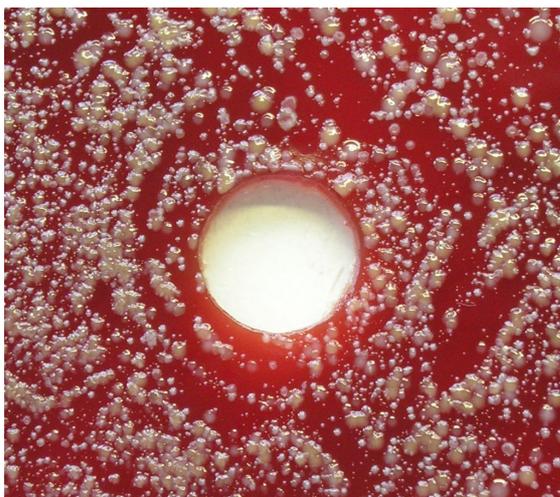


Abbildung 32: Kontrolle ohne EGCG auf aerob bebrütetem Blutagar

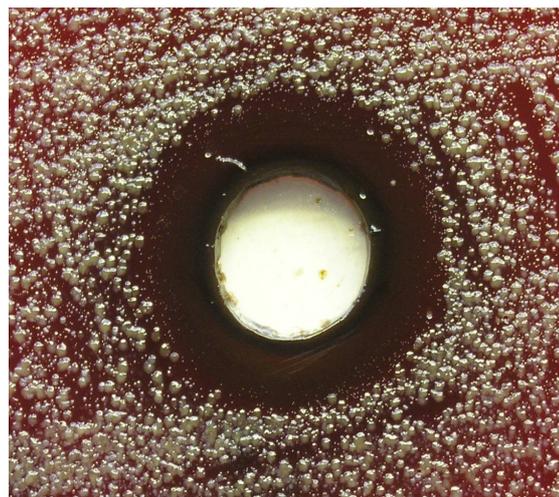


Abbildung 33: Hemmhofbildung durch EGCG (13 mg/100 µl) auf aerob bebrütetem Blutagar

4.2.5 Antioxidativer Status

Als Nebenzielgröße wurde der Einfluss von EGCG auf den Antioxidativen Status der Katzen untersucht.

4.2.5.1 Vitamin E-Konzentration im Serum

In Tabelle 62 werden die mittleren Konzentrationen (in µg/ml) von Vitamin E im Serum der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 dargestellt. Die Kontrollgruppe hat mit $11,27 \pm 3,39$ µg/ml einen höheren Ausgangswert als die EGCG-Gruppe ($8,76 \pm 1,64$ µg/ml). Die Vitamin E-Konzentrationen im Serum sinken in beiden Gruppen vom Zeitpunkt Tag 0 auf den Zeitpunkt Tag 28 ab. Diese Verminderung ist jedoch nur in der EGCG-Gruppe statistisch signifikant.

Tabelle 62: Mittlere Vitamin E-Gehalte (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in µg/ml, von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Parameter	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
Vitamin E	11,27 ±3,39	8,48 ±2,17	8,76 ±1,64	6,75 [#] ±1,36

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.2.5.2 Vitamin C-Konzentration im Serum

In Tabelle 63 werden die mittleren Konzentrationen (in µg/ml) von Vitamin C im Serum der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 dargestellt. Die Kontrollgruppe hat mit 15,03±13,80 (µg/ml) einen höheren Ausgangswert als die EGCG-Gruppe (9,28±2,10 µg/ml). Die Vitamin C-Konzentration im Serum bleibt in der EGCG-Gruppe nahezu unverändert, in der Kontrollgruppe fällt sie vom Zeitpunkt Tag 0 auf den Zeitpunkt Tag 28 um 5,34 µg/ml ab. Dieser Abfall ist nicht statistisch signifikant.

Tabelle 63: Mittlere Vitamin C-Gehalte (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in µg/ml von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Parameter	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
Vitamin C	15,03 ±13,80	9,69 ±2,63	9,28 ±2,22	8,97 ±2,10

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.2.5.3 Trolox Equivalent Antioxidant Capacity im Serum

In Tabelle 64 wird die mittlere TEAC (in mmol/l) im Serum der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 dargestellt. Die Kontrollgruppe hat mit 0,519±0,315 mmol/l einen höheren Ausgangswert als die EGCG-Gruppe (0,395±0,048 mmol/l). In der Kontrollgruppe fällt die mittlere TEAC von Zeitpunkt Tag 0 auf Tag 28 um 0,139 mmol/l statistisch nicht signifikant ab. In der EGCG-Gruppe steigt die TEAC um 0,024 mmol/l statistisch nicht signifikant an. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der TEAC-Konzentration in der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe ist bei Betrachtung der Prüfgröße Delta Tag 0-Tag 28 erkennbar.

Tabelle 64: Mittlere TEAC (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in mmol/l von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Parameter	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
TEAC	0,519 ±0,315	0,380 ±0,047	0,395 ±0,048	0,419* ±0,043

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.2.5.4 Creatin-Kinase im Serum

In Tabelle 65 wird die mittlere CK-Konzentration (in U/l) im Serum der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 dargestellt.

Alle mittleren CK-Konzentrationen liegen über dem Referenzbereich für Katzen. Die Kontrollgruppe hat mit $308,67 \pm 287,28$ (U/l) einen niedrigeren Ausgangswert als die EGCG-Gruppe ($350,89 \pm 291,43$ U/l). Die mittlere CK-Konzentration sinkt in beiden Gruppen von Tag 0 auf Tag 28 ab. Dieser Abfall ist in der Kontrollgruppe deutlicher (128,17 U/l) als in der EGCG-Gruppe (65,45 U/l), er ist jedoch in keiner der Gruppen statistisch signifikant.

Tabelle 65: Mittlere Konzentrationen der Creatin-Kinase (MW±Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in U/l von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Parameter	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
CK	308,67 ±287,28	180,50 ±58,79	350,89 ±291,43	285,44 ±204,63

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe, Prüfgröße Delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.2.5.5 Aspartat-Aminotransferase im Serum

In Tabelle 66 wird die mittlere AST-Konzentration (in U/l) im Serum der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 dargestellt.

Alle mittleren AST-Konzentrationen liegen im Referenzbereich für Katzen. Die Kontrollgruppe hat mit $23,33 \pm 4,58$ U/l einen niedrigeren Ausgangswert als die EGCG-Gruppe ($26,78 \pm 5,50$ U/l). Die mittlere AST-Konzentration sinkt in beiden Gruppen von Tag 0 auf Tag 28 ab. Dieser Abfall ist in der EGCG-Gruppe deutlicher (um $3,56$ U/l) als in der Kontrollgruppe (um $2,33$ U/l). Er ist jedoch in keiner der beiden Gruppen statistisch signifikant.

Tabelle 66: Mittlere Konzentration der Aspartat-Aminotransferase (MW \pm Stabw.) im Serum der Versuchstiere (n=9 je Gruppe) in U/l von der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 (Versuch II)

Parameter	Kontrollgruppe		EGCG-Gruppe	
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
AST	23,33 $\pm 4,58$	21,00 $\pm 2,39$	26,78 $\pm 5,50$	23,22 $\pm 4,74$

*: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Kontrollgruppe und der EGCG-Gruppe, Prüfgröße delta Tag 0 - Tag 28

#: signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) innerhalb der Gruppe zwischen Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28

4.2.6 (-)-Epigallocatechingallat-Plasmaspiegel

Bei Bestimmung des EGCG-Plasmaspiegels lagen alle untersuchten Proben unter dem „LLQ“ (lower limit of quantification) von 5 ng EGCG / ml.

5 Diskussion

5.1 Zum Versuchsaufbau und der Versuchsdurchführung

Für die Durchführung von Versuchen, die die Wirksamkeit von Zahnpflegeprodukten bei Hunden und Katzen evaluieren sollen, gibt der Veterinary Oral Health Council (VOHC) Richtlinien heraus (VOHC, 2004). Der zugrunde liegende Versuchsaufbau lehnt sich an die Empfehlungen des VOHC an. Die folgenden drei Anforderungen des VOHC konnten die Versuche nicht erfüllen:

- 1) Die Anforderung, mindestens zwei Versuche mit demselben Wirkstoff mit unterschiedlicher Tierpopulation und unterschiedlichen Untersuchern durchzuführen. Diese Anforderung kann durch andere Arbeitgruppen bzw. Folgeversuche an unserem Institut noch zu einem späteren Zeitpunkt erfüllt werden. Aufgrund der kleinen Katzenpopulation, die für die Versuche zur Verfügung stand, und der Belastung der Tiere durch die häufigen Narkosen, konnten für diese Arbeit keine weiteren Versuche durchgeführt werden.
- 2) Die Anforderungen an das Kontrollfutter. Das Kontrollfutter wird vom VOHC als kommerziell erhältliches Trockenfutter definiert. Da die gesamte Futter-Charge noch vor Aufbringen eines Digests beim Hersteller aus der Produktion abgezweigt wurde und erst von der Firma DSM Nutritional Products, Kaiseraugst (Schweiz) sowohl auf das wirkstoffhaltige Futter als auch auf das Kontrollfutter Digest (mit / ohne Wirkstoff) aufgebracht wurde, entspricht dieses Kontrollfutter nicht mehr genau der Anforderung. Für eine korrekte Durchführung hätten drei Gruppen gebildet werden müssen: eine Versuchsgruppe, die Futter mit wirkstoffhaltigem „DSM-Digest“ erhält, eine Kontrollgruppe, die Futter mit wirkstofffreiem „DSM-Digest“ erhält, und eine Gruppe, die das kommerziell erhältliche Originalfutter "Minkas Vollkost" mit dem Digest der Herstellerfirma erhält. Aufgrund der geringen zur Verfügung stehenden Tierzahl wurde auf eine Aufteilung der 18 Katzen in drei Gruppen verzichtet. Es ist aber anzunehmen, dass durch das Aufbringen des wirkstofffreien Digests durch DSM Nutritional Products keine bedeutenden Unterschiede zum Originalfutter entstanden sind.
- 3) Die Anforderung an die zu untersuchenden Zähne. Die Auswahl der zu beurteilenden Zähne bei Katzen sollte laut VOHC außer den in dieser Studie beurteilten 12 Zähnen, zusätzlich noch die 3. Prämolaren des Unterkiefers (Zähne: 307, 407) mit einbeziehen. Dieser Anforderung konnte nicht entsprochen werden, da vom Zahn 307 die

Plaqueprobe (Tupferprobe) zur mikrobiologischen Untersuchung entnommen wurde und in Folge dessen die Bestimmung der Indices nicht mehr möglich war.

Das restliche Versuchsdesign (Dauer des Versuches und der Auswaschphase, Verwendung des „Clean-Tooth“-Modells, Anforderungen an die Tierpopulation, Auswahl der Indices, Anforderungen an die durchführenden Personen, Verblindung der Versuchs- und Kontrollgruppe) wird den Anforderungen des VOHC für die Untersuchung von Produkten, die chemische Antiplaque-Agentien enthalten, gerecht. Die vollständigen Anforderungen der VOHC an die Untersuchung eines solchen Futtermittels sind unter VOHC (2004) nachzulesen. In den durchgeführten Versuchen wurden noch einige zusätzliche Parameter bestimmt, die für eine VOHC-Anerkennung des Futters nicht gefordert werden. Dazu gehört die bakteriologische Untersuchung (optional für VOHC), die Messung der Halitose und verschiedene Parameter, die zur Erfassung des Parodontalstatus gemessen wurden (PD, FI, MI). Diese Untersuchungen wurden durchgeführt, um von den Inhaltsstoffen ein breiteres Bild der möglichen Wirkungen auf die Maulhöhlengesundheit der Katzen zu gewinnen.

Sowohl Lactoferrin als auch EGCG sind neben ihrer antibakteriellen Wirkung auch als Antioxidantien bekannt. EGCG wird bereits als antioxidativer Wirkstoff in Katzenfutter eingesetzt, um „Radikale zu neutralisieren und so die Zellalterung zu verlangsamen“ (Royal Canine, feline Nutrition, „Mature 28“). Um diesen Einfluss der Wirkstoffe in den hier eingesetzten Dosierungen zu überprüfen, wurde als Nebenzielgröße der Antioxidative Status der Katzen gemessen.

Zur Dosierung des Futters und der Wirkstoffe:

Der mittlere Energiebedarf der Katzen pro Tag wurde mit 0,33 MJ ME / kg KM angenommen (Katzen in Gruppenhaltung, (KAMPHUES et al., 1999)). Dadurch ergab sich bei einem Durchschnittsgewicht der Katzen von 3,9 kg ein durchschnittlicher Energiebedarf von 1,287 MJ / Katze pro Tag. Sowohl das Original Futter „Minkas Vollkost“ als auch die durch DSM nutritional Products präparierten Trockenfutter hatten laut der institutseigenen Weender Analyse einen Energiegehalt von ca. 1,5 MJ / 100 g. Daraus folgt ein durchschnittlicher täglicher Bedarf von 86 g Trockenfutter pro Katze.

Lactoferrin:

Bei einer durchschnittlichen täglichen Futteraufnahme von 86 g / Katze und einem Wirkstoffgehalt von 517 mg / kg Futter wurden durchschnittlich 44,5 mg Lactoferrin / Katze / Tag auf-

genommen. Umgerechnet auf die Dosis in mg/kg Körpergewicht erhält man eine Dosis von 11,4 mg / kg KM, die die Katzen der Versuchsgruppe täglich über 27 Tage hinweg erhielten (an Tag 28 blieben die Katzen wegen der bevorstehenden Narkose nüchtern).

Für die Dosisfindung gab es keine Anhaltspunkte, da Lactoferrin bisher noch nicht in dieser Form zur Prophylaxe von Parodontopathien eingesetzt wurde. Deshalb wurde die oben genannte Dosis orientierend ausgewählt. Für die In-vitro-Untersuchungen erwies sie sich als ausreichend gewählt, für die In-vivo-Wirksamkeit war sie eventuell zu gering gewählt (siehe Schlussfolgerung).

(-)-Epigallocatechingallat:

Bei einer durchschnittlichen täglichen Futtermenge von 86 g / Katze und einem Wirkstoffgehalt von 227 mg / kg Futter wurden durchschnittlich 19,5 mg EGCG / Katze / Tag aufgenommen. Umgerechnet auf die Dosis in mg / kg Körpergewicht erhält man eine Dosis von 5 mg / kg KM, die die Katzen der Versuchsgruppe täglich über 27 Tage hinweg erhielten (an Tag 28 blieben die Katzen wegen der bevorstehenden Narkose nüchtern).

Für diese Dosisfindung gab es ebenfalls keine Anhaltspunkte, da EGCG bei Katzen bisher noch nicht zur Verbesserung der Maulhöhlengesundheit eingesetzt wurde. Deshalb wurde die oben genannte Dosis unter Berücksichtigung von Studien am Menschen und der Unschädlichkeit für Katzen orientierend ausgewählt. Für die In-vitro-Untersuchungen erwies sie sich als ausreichend, für die In-vivo-Wirksamkeit war sie jedoch vermutlich ebenfalls zu gering gewählt (siehe Schlussfolgerung).

Da es sich bei EGCG um ein Polyphenol handelt, bestanden vor Versuchsbeginn Bedenken aufgrund der Toxizität von Phenolen speziell für Katzen. Katzen (sowie Reptilien und Vögel) reagieren besonders empfindlich auf Phenole, da die Fähigkeit zur Glucuronidierung bei diesen Spezies nur rudimentär ausgeprägt ist, und der Giftstoff daher nur langsam abgebaut wird (KRAFT und HIRSCHBERGER, 2000).

Da über die Toxizität von EGCG für Katzen keine Studien vorhanden sind, wurde der Einsatz anderer phenolischer Substanzen bei Katzen betrachtet und Rückschlüsse auf den Einsatz von EGCG gezogen. So liegt zum Beispiel die Dosierungsempfehlung für Aspirin®, das auch einen Phenolring enthält, bei Katzen mit 10-25 mg / kg KM, jeden 2. Tag, (PLUMB, 2002) um das Doppelte über der hier eingesetzten Dosis. Die minimal toxische Dosis (oral) von Phenol beträgt bei der Katze 30 mg / kg KM. Eine toxische Wirkung des EGCG in der im Futter verwendeten Dosierung erschien demnach sehr unwahrscheinlich. Außerdem wird oral

verabreichtes EGCG nur zu einem geringen Teil resorbiert (Maus ca. 26,5%, Ratte <1%, Mensch ca. 30%, Hund ca. 20%, über Katzen gibt es keine Studie).

Durch die Messung des EGCG-Plasmaspiegels zwei Stunden nach der Fütterung wurde erfasst, wie viel EGCG in das Blut der Katzen übergegangen war. Alle Werte lagen mit weniger als 5 ng / ml unter der Messgrenze des Verfahrens (LC/MS), so dass davon ausgegangen werden kann, dass EGCG in der verabreichten Form bei Katzen nicht bzw. nur in sehr geringen Mengen absorbiert wird oder dass das absorbierte EGCG sehr schnell präsystemisch eliminiert wird. Da auch während des gesamten Versuches keine klinischen Anzeichen einer Toxizität festgestellt werden konnten und auch keine labordiagnostischen Hinweise auf eine Phenolintoxikation (Veränderung von Leber- und Nierenwerten, hämolytische Anämie) vorlagen, kann davon ausgegangen werden, dass die gewählte EGCG-Dosis für Katzen unschädlich ist.

Die Verabreichung der untersuchten Substanzen erfolgte über das Futter. Diese Applikationsart wurde gewählt, um eine möglichst problemlose und einfache Verabreichung der Wirkstoffe zu ermöglichen. Andere Applikationsarten (z. B. in einem Zahngel) haben eine geringere Akzeptanz bei den Tierbesitzern, da sie mit zusätzlichem Aufwand verbunden sind und sich nur bei kooperativen Tieren anwenden lassen. Die Verabreichung über das Futter ist hingegen bei allen Katzen möglich, solange das Futter von den Katzen akzeptiert wird.

Die Akzeptanz des in diesen Versuchen verwendeten Futters war bei den 18 Versuchskatzen durchweg gut, wenn auch in der Vorperiode Feuchtfutter dem Trockenfutter vorgezogen wurde. In den Versuchen schien das mit EGCG präparierte Futter von den Katzen sogar lieber aufgenommen zu werden als das Kontrollfutter. Dabei handelt es sich jedoch lediglich um eine subjektive Beobachtung.

Die Verabreichung über das Futter hat außer der möglicherweise auftretenden Akzeptanzproblematik den Nachteil, dass der Wirkstoff nur über einen kurzen Zeitraum direkt mit der Maulhöhle in Kontakt kommt.

Im Gegensatz zu Pflanzenfressern dauert der Kauvorgang bei Fleischfressern nur sehr kurz. Mehr noch als der Hund besitzt die Katze eine extrem sekodontes Gebiss, das auf rein tierische Nahrung ausgerichtet ist (NICKEL et al., 1995). Durch die ausschließlich vertikale Beweglichkeit des Unterkiefers und die fehlenden Mahlflächen auf den Backenzähnen eignet es sich nicht zum Zermahlen von Nahrung, das stark spezialisierte Gebiss gestattet lediglich das Zerschneiden der Beutestücke (REICHART, 1991). Von den Karnivoren ist die Katze

jedoch die einzige, die ihr Futter gründlich kaut. Dabei wird das Futter aber nicht gemahlen sondern gequetscht und zerschnitten (KOLB, 1989).

An diesen Schneidevorgängen sind vor allem die vierten Prämolaren des Oberkiefers und die ersten Molaren des Unterkiefers als so genannte „Brechscheren“ beteiligt. Es kann angenommen werden, dass die Kontaktzeit im Backenzahnbereich durch den Kau- (Schneide-)Vorgang länger ist als im Bereich der Canini. Eine längere lokale Einwirkdauer der Testsubstanzen könnte an diesen Zähnen zu einer verbesserten Wirkung führen.

Dennoch war die Kontaktzeit der Wirkstoffe -selbst bei gründlichem Kauen- in unserem Versuch auf zweimal täglich jeweils ca. 5-30 Minuten (je nach Katze) beschränkt.

5.2 Zu den Blutbildern

Zum Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 jedes Versuches wurde das rote und das weiße Blutbild untersucht. Ziel der Untersuchungen war zum einen die Kontrolle des Gesundheitszustandes der Katzen und zum anderen die Untersuchung eines möglichen Einflusses der eingesetzten Wirkstoffe auf die Parameter des roten und des weißen Blutbildes.

5.2.1 Rotes Blutbild

Das rote Blutbild war in beiden Versuchen sowohl in den Kontrollgruppen als auch in den Wirkstoffgruppen zu allen Blutentnahmezeitpunkten unauffällig. Alle Werte lagen im Referenzbereich nach KRAFT und DÜRR (1997). Ein Einfluss der Wirkstoffe LF und EGCG auf Parameter des roten Blutbildes konnte nicht festgestellt werden.

Ein Einfluss von LF wäre eventuell bei erhöhtem Eisenbedarf für die Blutbildung (z. B. bei Jungtieren, bei hämolytischen Anämien, bei Blutungsanämien) zu erwarten gewesen, da LF die Eisenresorption im Darm fördern kann (KAWAKAMI et al., 1990).

Eine Veränderung von Parametern des roten Blutbildes durch EGCG war nicht zu erwarten. Lediglich im unwahrscheinlichen Fall einer Phenolintoxikation hätte man eine hämolytische Anämie mit Reduktion der Erythrozytenzahl, des Hämoglobins und des Hämatokrits als Intoxikationssymptom erwartet.

5.2.2 Weißes Blutbild

Statistisch signifikante oder auch nur tendenzielle Auswirkungen der Wirkstoffe auf Parameter des weißen Blutbildes ließen sich weder in Versuch I (Wirkstoff: LF) noch in Versuch II (Wirkstoff: EGCG) feststellen.

Auffällig bei der Auswertung des weißen Blutbildes war jedoch die Eosinophilie, die zu allen Untersuchungszeitpunkten in beiden Gruppen auftrat. Die Differentialdiagnosen für

Eosinophilie reduzieren sich in größeren Populationen nicht verwandter Katzen auf Parasitenbefall. In den vorgenommenen Kotuntersuchungen konnten jedoch keine Endoparasiten festgestellt werden. Die Kotproben wurden mittels Flotation auch auf Giardien untersucht, ein Nachweis war nicht möglich. Zur weiteren Diagnostik von Giardien-Befall wird der Nachweis von Giardia-Antigen im Kot mittels ELISA empfohlen. Da keine klinischen Anzeichen für einen Giardien-Befall vorhanden waren, wurde auf diese Bestimmung verzichtet. Auszuschließen ist ein Giardien-Befall anhand der durchgeführten Untersuchungen jedoch nicht. Ein Hinweis auf Ektoparasiten-Befall, der ebenfalls zur Eosinophilie geführt haben könnte, war nicht feststellbar.

Auffällig war auch die bei vielen Tieren aufgetretene Monozytose. Diese ist am ehesten durch akuten Stress erklärbar. Für fast alle Katzen war die intramuskuläre Injektion zur Narkoseeinleitung mit Stress verbunden, so dass bei der kurz nach Narkoseeintritt durchgeführten Blutentnahme hohe Monozytenzahlen durchaus erwartet werden konnten.

5.3 Zu den Maulhöhlenparametern

5.3.1 Zur Halitosemessung

5.3.1.1 Methode

Die Ursachen des unangenehmen Maulhöhlengeruches liegen in den meisten Fällen in der Maulhöhle selbst und sind mikrobiell bedingt. Es sind vor allem gramnegative anaerobe Bakterien, die aus den schwefelhaltigen Aminosäuren in Debris und Futterresten flüchtige Schwefelverbindungen (VSC), wie Hydrogensulfid und Methylmerkaptan, produzieren. Wichtige VSC-produzierende Bakterien sind *Fusobacterium species*, *Bacteroides species*, *Porphyromonas species*, *Eubacterium species* und *Peptostreptococcus species* (PERSSON et al., 1990). Andere flüchtige Substanzen (Cadaverin, Skatole, Indole, etc.) spielen bei der Entstehung des Maulhöhlengeruches ebenfalls eine Rolle. Hauptsächlich verantwortlich für unangenehmen Maulhöhlengeruch sind jedoch Methylmerkaptan und Hydrogensulfid (SCULLY et al., 1997).

Die organoleptische Messung des Maulhöhlengeruches wurde an den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 jedes Versuches durchgeführt. Die beurteilende Person war immer dieselbe um individuelle Unterschiede in der Empfindung des Maulhöhlengeruches auszuschließen. Die organoleptische Messung ist einfach durchzuführen und wäre bei den meisten Katzen auch in wachem Zustand möglich gewesen. Sie gibt am besten den tatsächlich von der Umwelt

empfundenen Maulhöhlengeruch wieder und ist als Standard akzeptiert. Durch Unterschiede in der Empfindung und Einschätzung der Halitose des jeweiligen Untersuchers sowie durch die physische als auch psychische Verfassung des Untersuchers kann es bei diesem Verfahren jedoch zu einer Beeinflussung der Bewertung der Halitose kommen (SIMONE et al., 1994).

Aus diesen Gründen wurden verschiedene Verfahren entwickelt, um das Ausmaß der Halitose mit Geräten zu messen und die Messung dadurch objektiver zu gestalten. Alle Messgeräte haben den Nachteil, dass sie nur bestimmte chemische Verbindungen messen. Das Halimeter® misst vor allem Hydrogensulfid. Andere flüchtige Schwefelkomponenten wie Methylmerkaptan und Dimethylsulfid werden ebenfalls gemessen, die Sensitivität des Gerätes für diese Verbindungen ist jedoch nur halb so hoch wie die Sensitivität für Hydrogensulfid.

Bedingt durch die Ungenauigkeit des Sensors ist die Standardabweichung bei den Halimeter®-Messungen generell hoch (durchschnittlich 18 ppm in Versuch I und 25 ppm in Versuch II). Die Fa. Interscan weist darauf hin, dass bei der Kalibrierung des Gerätes auf den 0-Wert Schwankungen um ± 10 ppm (!) akzeptabel sind (INTERSCAN-CORPORATION, 2003).

Sowohl die organoleptische Untersuchung der Halitose als auch die Messung mit dem Halimeter® wurden unter Allgemeinnarkose durchgeführt. In wie weit die Werte durch die Narkose beeinflusst wurden, ist nicht bekannt. Mögliche Faktoren, die zu einer Verfälschung der gemessenen Werte in Narkose gegenüber den Werten an wachen Katzen führen könnten, sind die Austrocknung der Maulhöhle durch die präanästhetische Atropingabe (Xerostomie) sowie die Tatsache, dass alle Katzen zum Zeitpunkt der Messung mindestens 12 Stunden nüchtern waren. Da diese Voraussetzungen bei allen Katzen dieselben waren, lassen sich die Ergebnisse der Gruppen dennoch vergleichen.

Eine Messung der Halitose an wachen Katzen wäre nur mit der organoleptischen Methode möglich gewesen. Die Messung mittels Halimeter® setzt voraus, dass der Mess-Schlauch für die Dauer des Messzeitraumes ruhig in der geschlossenen Maulhöhle liegt und nicht an Zunge oder Zähne anstößt, sowie dass keine Außenluft in die Maulhöhle einströmt. Diese Voraussetzungen hätten an wachen Katzen nicht gewährleistet werden können.

Eine Verwendung des Halimeters an Katzen in anderen Studien ist nicht bekannt. Es gibt jedoch mehrere Berichte über die Anwendung des Halimeters bei Hunden (HENNET et al., 1995 a; HENNET et al., 1998; RAWLINGS und CULHAM, 1998), die als Vorlagen für diese Versuche herangezogen wurden.

5.3.1.2 Ergebnisse

Einschätzung der gemessenen Werte:

In der Humanmedizin werden Werte zwischen 80 und 140 ppm bei Personen gemessen, die keine auffällige Halitose aufweisen (INTERSCAN-CORPORATION, 2003). Beim Hund werden Werte von 60 ppm als „normal“ betrachtet, Werte >120 ppm werden in der organoleptischen Beurteilung meist als mittlerer bis starker Maulgeruch beurteilt (HENNET et al., 1998). Die in unseren Versuchen an den Katzen gemessenen Werte lagen alle in einem Bereich zwischen 37-161 ppm.

In Studien an Hunden konnte durch den Einsatz antibakterieller Substanzen (z. B. Chlorhexidin) sowie durch professionelle Zahnreinigung und Zahnpflegemaßnahmen durch den Besitzer eine Verminderung des Maulgeruches gemessen werden. Dies ist auf die Verminderung der VSC-produzierenden Bakterien in der Maulhöhle zurückzuführen (CULHAM und RAWLINGS, 1998). Ein ähnlicher Effekt darf beim Einsatz der antibakteriellen Substanzen EGCG und Lactoferrin erwartet werden.

Im Versuch I konnte sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Lactoferringruppe organoleptisch eine nicht signifikante Verringerung des Maulhöhlengeruches festgestellt werden. Dagegen wurde durch die Messung mit dem Halimeter® in der Lactoferringruppe ein statistisch signifikanter Anstieg der Halitose von Tag 0 auf Tag 28 gefunden. Auch in der Kontrollgruppe stiegen die Werte der Halimeter®-Messung an, jedoch nicht statistisch signifikant.

Dieses Ergebnis war nicht zu erwarten, denn normalerweise ist die Korrelation zwischen den Ergebnissen der Halimeter®-Messung und der organoleptischen Messung gut (HENNET et al., 1995 a). Auch der Anstieg von Tag 0 auf Tag 28 in beiden Gruppen bei der Halimeter®-Messung ist erstaunlich, würde man doch alleine durch die gründliche Zahnreinigung an Tag 0 eine Verminderung der Halitose erwarten. Aus mikrobiologischer Sicht ist diese Ergebnis nicht erklärbar, denn ein deutlicher Anstieg der VSC-produzierenden gramnegativen anaeroben Stäbchen ist bei den untersuchten Katzen nicht festzustellen.

Der deutlich stärkere Anstieg der Halimeter®-Werte der Lactoferringruppe bleibt ungeklärt. Mögliche Gründe für einen erhöhten Messwert könnte ein Fehler bei der Messung sein (z. B. zu starker Einstrom von Atemluft in den Mess-Schlauch) oder eine tatsächlich erhöhte Bildung von VSC. Diese müsste jedoch mit Veränderungen der Maulhöhlenflora (Vermehrung der anaeroben Bakterienspezies) einhergehen, für die es keine Hinweise gibt. Aufgrund der

geringen Anzahl der mikrobiologisch untersuchten Tiere ist diese Möglichkeit jedoch nicht auszuschließen.

In Versuch II konnte in der Kontrollgruppe organoleptisch kein Unterschied der Halitose zwischen Tag 0 und Tag 28 ausgemacht werden. In der EGCG-Gruppe wurde jedoch eine deutliche Reduktion der Werte der organoleptischen Messung um 29% festgestellt. Durch die Messung mit dem Halimeter® konnten keine nennenswerten Unterschiede zwischen den Zeitpunkten festgestellt werden.

In Versuch II korrelieren die Ergebnisse der Halimeter®-Messung und der organoleptischen Messung in der Kontrollgruppe positiv, in der EGCG-Gruppe konnte die organoleptisch erfasste Reduktion der Halitose jedoch nicht mit den Halimeter®-Werten nachvollzogen werden. Die Reduktion der organoleptisch gemessenen Halitose könnte mit einer Reduktion der flüchtigen Verbindungen zusammenhängen, die das Halimeter® nicht oder nur in geringem Ausmaße detektieren kann. Ein mikrobiologischer Hinweis für diese Annahmen konnte bei den zwei untersuchten Katzen der EGCG Gruppe jedoch nicht gefunden werden. Bei beiden Katzen nahm der Anteil der anaeroben gramnegativen Stäbchen an der Gesamtflora von Tag 0 auf Tag 28 sogar deutlich zu. Die Anzahl der untersuchten Tiere ist jedoch zu klein, um eine mikrobiologische Veränderung auszuschließen.

5.3.2 Zu den Indices

5.3.2.1 Methoden

Indices sind numerische Ausdrücke definierter diagnostischer Kriterien. Durch Indices werden Veränderungen eines bestimmten Parameters erfasst. Die Verwendung einer numerischen Skala und einer standardisierten Evaluierungsmethode resultieren in einem Index-Wert, der übereinstimmend und objektiv ist (LOGAN und BOYCE, 1994).

Die Wiederholbarkeit und Validität der für die Messung der Plaque- und Zahnsteinakkumulation verwendeten Methodik ist jedoch laut LOGAN und HEFFEREN (1996) sowohl beim Hund als auch bei der Katze als kritisch einzuschätzen.

Entscheidend für die größtmögliche Validität der Methode ist es, dass die beurteilende Person in der Erfassung der Indices geübt ist und zu keinem Zeitpunkt weiß, welche Tiere der Wirkstoffgruppe und welche der Kontrollgruppe angehören.

In beiden Versuchen wurden jeweils sechs verschiedene Indices in der Maulhöhle bestimmt. Dadurch wurde ein Überblick über den Parodontalstatus vor und nach der vierwöchigen

Fütterungsphase erhalten und Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der Wirkstoffgruppe wurden erkennbar und statistisch auswertbar.

Alle in den Versuchen verwendeten Indices leiten sich von Indices aus der Humanmedizin ab. Diese wurden für die Verwendung in der Tiermedizin modifiziert und an die veränderten Verhältnisse angepasst.

Hunde, vor allem Beagles, dienen schon lange als Modelltiere für die Entwicklung von Plaque- und Zahnstein beim Menschen, und es gibt viele Berichte über den Einsatz der verwendeten Indices an Hunden. Katzen wurden aufgrund ihres schwierigeren Handlings und ihrer schlecht zugänglichen Maulhöhle selten als Modelltiere verwendet, so dass die Anwendung der Indices bei Katzen weniger gut untersucht ist. Der Einsatz solcher Indices nimmt aber auch bei Katzen im Rahmen der Untersuchungen verschiedener Zahnpflegemaßnahmen zu. Die in den Versuchen I (Wirkstoff: Lactoferrin) und II (Wirkstoff: (-)-Epigallocatechingallat) untersuchten Indices wurden aus ähnlich aufgebauten Studien (BOYCE, 1992; GORREL et al., 1998; CLARKE, 2001; INGHAM et al., 2002 b) übernommen. Obwohl Katzen im Vergleich zu Hunden pro Zeiteinheit weniger Plaque und Zahnstein akkumulieren, sind laut LOGAN und HEFFEREN (1996) beide Substrate mit den beschriebenen Indices auch bei der Katze innerhalb eines Kontrollzeitraumes von zwei bis vier Wochen nachweisbar.

5.3.2.2 Ergebnisse

5.3.2.2.1.1 Gingivitisindex

Zur Erfassung des Gingivitisgrades gibt es keinen Index, der universell einsetzbar ist. In den Versuchen wurde ein Gingivitisindex verwendet, wie er für die Anwendung bei Katzen schon von GORREL et al. (1998), CLARKE (2001) und INGHAM et al. (2002 a) beschrieben wurde.

Dieser Index beinhaltet die Beurteilung des Rötungsgrades des Gingivarandes (nicht invasiv) sowie die Untersuchung der Blutungsbereitschaft des Zahnfleisches bei Sondierung bzw. spontan.

Die Untersuchung der Blutungsneigung bei Sondierung wird von manchen Autoren kritisch beurteilt, weil durch das Einführen der Sonde in den gingivalen Sulcus mechanische Schäden verursacht werden können. Die Kraft, die mit der Sonde auf die Gingiva ausgeübt wird sowie die Platzierung, die Bewegung und Winkelung der Sonde im Sulcus sind stark vom jeweiligen Untersucher abhängig und machen die Beurteilung subjektiv.

Indices mit Betrachtung der Blutungsneigung werden jedoch im Allgemeinen als objektiver angesehen als solche, die nur auf der visuellen Beurteilung des Gingivarandes beruhen. Nach

den Empfehlungen der „American Dental Association“ (ADA) sollte ein nicht invasives Beurteilungssystem nie alleine verwendet werden sondern immer in Kombination mit einer anderen Methode, die die Beurteilung der Blutungsneigung bei Sondierung beinhaltet (IMREY et al., 1994).

Der Druck, der bei der Sondierung ausgeübt wird, ist von besonderer Bedeutung. In Untersuchungen an Menschen wurde gezeigt, dass bei Sondierung des gingivalen Sulcus bereits bei Kräften etwas über 0,25 N auch klinisch gesunde Gingiva häufig beschädigt und traumatisiert wird und sich damit falschpositive Resultate ergeben.

Um diese Fehler auszuschließen, wurde in den Versuchen eine Sonde mit definiertem Anschlag bei 0,2 Newton eingesetzt.

Bei der Katze ist die Bestimmung eines Gingivitisindex mit Sondierung nur in Narkose möglich. Im Wachzustand wäre die Sondierung des gingivalen Sulcus von den Tieren nicht toleriert worden und wäre nicht mit der erforderlichen Genauigkeit durchzuführen gewesen. Durch den Einsatz des α -2-Agonisten Medetomidin war eine periphere Vasokonstriktion während der Narkose zu beobachten, so dass die Schleimhäute generell blasser waren als im Wachzustand. Dennoch konnte Rötungen und Blutungen gut beurteilt werden. Auch die oben genannten Untersuchungen von GORREL et al. und INGHAM et al. wurden in Narkose mit Verwendung von α -2-Agonisten durchgeführt.

Ergebnisse:

In vorangegangenen Studien an Katzen (GORREL, 1998; CLARKE, 2001; INGHAM et al., 2002) konnte eine Verringerung der Gingivitis durch den Einsatz antibakteriell wirksamer Substanzen (z. B. Zink-Ascorbat), durch tägliches Zähneputzen sowie durch die Verwendung von speziellen Kauröllchen für Katzen erreicht werden. Dieser Effekt wurde auch von den antibakteriellen Substanzen Lactoferrin und EGCG erwartet. Durch ihre antibakterielle Aktivität hätte eine verringerte Ansammlung der Plaquebakterien während der Versuchsperiode und damit eine schwächere Entzündungsreaktion der Gingiva der Wirkstoffgruppe gegenüber der Kontrollgruppe erwartet werden können.

In Versuch I (Wirkstoff: Lactoferrin) konnte sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Lactoferringruppe eine Verringerung des Gingivitisindex über den Versuchszeitraum festgestellt werden. Die Verringerung war aber in beiden Gruppen ähnlich, so dass nicht

davon ausgegangen werden kann, dass Lactoferrin eine Auswirkung auf den Entzündungsgrad des Zahnfleisches hatte.

Die generelle Verminderung des Gingivitisindex in beiden Gruppen ist durch die Entfernung der Plaque und des Zahnsteins und damit der auslösenden Reize an Tag 0 erklärbar.

In Versuch II (Wirkstoff: EGCG) blieben die Gingivitisindices zwischen Tag 0 und Tag 28 nahezu gleich. Eine Verminderung des Gingivitisindex der EGCG-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe war nicht feststellbar, so dass davon ausgegangen werden muss, dass EGCG keine Auswirkung auf den Entzündungsgrad der Gingiva hatte.

Die in beiden Versuchen sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Wirkstoffgruppe auffällig geringen Gingivitisindices der 4. Prämolaren (Zähne 308, 408) und 1. Molaren (Zähne 309, 409) des Unterkiefers sind vermutlich durch die dort geringere Plaqueansammlung erklärbar (siehe Diskussion des Plaqueindex).

5.3.2.2.1.2 Sondierungstiefe

Die Sondierungstiefe wurde an Tag 0 und Tag 28 der Versuche mit einem Parodontometer mit mm-Einteilung gemessen. Eine Tiefe des gingivalen Sulcus von bis zu 1 mm wird bei der Katze als normal betrachtet (INGHAM et al., 2002 b). Tiefere Sulci weisen auf eine Zerstörung des Desmodonts und eventuell auch des Alveolarknochens hin; sie werden als Zahnfleischtaschen bezeichnet. Durch Zahnwurzelglättung und antibakterielle Behandlung kann es bei kleineren Zahnfleischtaschen (ohne Zerstörung des Alveolarknochens) zum sogenannten „New Attachment“ der bindegewebigen Strukturen kommen und infolge dessen zur Reduktion der Sulcus-Tiefe. Durch die Messung der Sondierungstiefe zu Beginn und Ende des vierwöchigen Versuchszeitraumes und den Vergleich der Wirkstoffgruppe mit der Kontrollgruppe konnte beurteilt werden, ob eine Verringerung der Sondierungstiefe durch die antibakteriell wirkenden Substanzen Lactoferrin und EGCG in diesem Zeitraum erreichbar ist.

In Versuch I (Wirkstoff: Lactoferrin) blieben die Sondierungstiefen beider Gruppen zwischen Tag 0 und Tag 28 annähernd gleich. Eine Auswirkung des Lactoferrins auf die Sondierungstiefe konnte nicht festgestellt werden.

In Versuch II (Wirkstoff: EGCG) verringerte sich die Sondierungstiefe in der EGCG-Gruppe zwischen Tag 0 und Tag 28 um 12%, in der Kontrollgruppe nur um 7%. Diese Veränderung lässt auf einen positiven Einfluss des EGCG auf die Zahnfleischtaschentiefe schließen. Der

Effekt war aber jedoch zu gering, um sich statistisch signifikant von der Kontrollgruppe abzuheben.

Die in beiden Versuchen sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der Wirkstoffgruppe auffällig geringen Sondierungstiefen der 4. Prämolaren (Zähne 308, 408) des Unterkiefers sind vermutlich durch die dort geringere Plaqueansammlung und folglich geringere Zahnfleischentzündung erklärbar (siehe Diskussion des Plaqueindex).

5.3.2.2.1.3 Mobilitäts-und Furkationsindex

Der Mobilitätsindex und der Furkationsindex sind zwei Indices, die nur bei fortgeschrittenen Erkrankungen des Parodontiums Werte > 0 zeigen. Durch den Einsatz antibakterieller Substanzen können zwar weder vorhandene Mobilität noch freiliegende Furkationen der Zähne rückgängig gemacht werden, da diese auf einer Zerstörung knöcherner Strukturen beruhen. Es könnte jedoch zu einer Verlangsamung des Fortschreitens dieser Prozesse kommen.

Der Mobilitätsindex wurde zu allen Versuchszeitpunkten bei vereinzelt Zähnen mit Grad 1 bewertet. Dies deutet auf eine geringgradige Mobilität (≤ 1 mm bucco-linguale Beweglichkeit) hin. Es war jedoch schwierig zu beurteilen, ob ein Zahn tatsächlich geringgradig beweglich war oder ob die normale Elastizität des periodontalen Ligaments überschätzt wurde, so dass diese Ergebnisse vorsichtig betrachtet werden müssen.

Auffällig ist, dass Mobilitätsindices > 0 in den Versuchen nur an den Canini (Zähne 104, 204, 304, 404) erhoben wurden.

Insgesamt wurde in beiden Versuchen neun Mal ein erhöhter Mobilitätsindex festgestellt. Diese Veränderungen verteilten sich auf nur vier Katzen. Bei drei der vier Katzen konnte die Mobilität des jeweiligen Zahnes zu zwei Zeitpunkten, bei einer Katze sogar zu drei Zeitpunkten festgestellt werden. Lediglich bei der Katze, bei der an drei Zeitpunkten eine erhöhte Mobilität festgestellt wurde, passte der Mobilitätsindex zum klinischen Bild mit starker Gingivitis und Zahnfleischtaschenbildung am entsprechenden Zahn, so dass in diesem Fall davon auszugehen ist, dass es sich um eine tatsächliche Verstärkung der Mobilität handelt.

Die erhöhte Mobilität der Zähne ist jedoch in in keinem der Fälle in einen Zusammenhang mit der Verteilung der Katzen auf die Wirkstoff- und Kontrollgruppen zu bringen.

In beiden Versuchen waren alle Werte für den Furkationsindex gleich 0, da bei den untersuchten Katzen keine freiliegenden Zahnwurzel-Furkationen vorlagen.

Die Auswirkung von Lactoferrin und EGCG auf den Mobilitäts- und Furkationsindex konnte aufgrund der geringen Anzahl von Werten > 0 nicht beurteilt werden.

5.3.2.2.1.4 Plaqueindex

Der Plaqueindex wurde nur an Tag 28 der Versuche bestimmt. Zum Zeitpunkt Tag 0 war er durch die vorangegangene Zahnreinigung gleich 0.

Zur Bestimmung der angesammelten Plaquemenge gibt es verschiedene Plaqueindices, die das Ausmaß der Plaquebedeckung und oft auch die Dicke der Plaqueschicht evaluieren.

RAMFJORD wendete 1959 als erster einen Plaqueindex an, dieser erfasste aber nur den Grad der Bedeckung des Zahnes mit Plaque. Für die Humanmedizin wurden seitdem mehrere verschiedene Indices entwickelt. In der Tiermedizin wird meist eine Modifikation der Turesky-Version des Quigley-und Hein-Plaqueindex verwendet, wie sie im Material-und Methoden-Teil dieser Arbeit beschrieben ist und in den Versuchen verwendet wurde. Sie bezieht neben der Bedeckung des Zahnes mit Plaque auch die Dicke der angesammelten Plaquemenge ein.

Nachteile dieses Index ergeben sich aus der Unterteilung des Zahnes in eine okklusale und eine gingivale Hälfte, für die keine anatomischen Anhaltspunkte gegeben werden. Deshalb ist laut HENNET (1999) die Verlässlichkeit und Reproduzierbarkeit solch einer Unterteilung fraglich. Des Weiteren sagt der Index nichts darüber aus, ob sich die Plaqueansammlung nur lokal oder auf der gesamten Zahnfläche vermindert hat. Ein verringerter Plaqueindex könnte also auch bedeuten, dass sich nur auf der coronalen Hälfte des Zahnes weniger Plaque angesammelt hat (z. B. durch mechanischen Abrieb) und die Bedeckung auf der gingivalen Hälfte gleich geblieben ist. In diesem Fall hätte sich trotz eines verminderten Plaqueindex keine verbesserte Situation für den Zahnfleischrand ergeben.

In Untersuchungen an Katzen stellte BOYCE (1992) fest, dass sich schon nach 7 Tagen Höchstwerte für den Plaqueindex einstellten und mit dem verwendeten Plaqueindex keine Vermehrung der Plaque nach diesem Zeitpunkt mehr erkennbar war. Daher stammt die Empfehlung, den Plaqueindex an Tag 7-14 nach der Zahnreinigung zu bestimmen. Da jedoch nach Erreichen des Spitzenwertes kein nennenswerter Abfall der Plaque-Index-Werte erfolgt, sondern ein Plateau erreicht wird, wurde unter Beachtung der Narkosetoleranz und des Handlings der Katzen eine Evaluierung aller zu erhebenden Parameter an Tag 28 vorgezogen.

Um die angesammelte Plaque sichtbar zu machen, wurde ein zweifarbige Anfärbemittel aus der Humanmedizin benutzt. Dieses hatte gegenüber dem in älteren Studien auch bei Katzen

benutzten Erythrosin den Vorteil der geringeren Toxizität. Außerdem besteht bei der mehrfachen Anwendung von Erythrosin die Gefahr einer allergischen Reaktion auf das im Erythrosin enthaltene Jod. Die in der verwendeten Anfärbelösung (Mira-2-Ton) enthaltenen Lebensmittelfarbstoffe Phloxin-B (C.I. acid red 92) und Patentblau (E131) werden als völlig untoxisch und nicht allergen eingeschätzt. Untersuchungen zum Einsatz von Mira-2-Ton-Lösung bei Tieren sind nicht bekannt. Die Lösung wird aber für den Einsatz beim Menschen von der Apothekerkammer empfohlen und es war davon auszugehen, dass sie auch für die Katzen weniger potentielle Gesundheitsrisiken birgt als Erythrosin (SCHÄFER, 2002). Die Anfärbelösung wurde von allen Katzen gut vertragen. Während der Aufwachphase konnte bei wenigen Katzen leichter Juckreiz im Maulbereich festgestellt werden. Möglicherweise war diese Reaktion durch die Anfärbelösung bedingt. Sie kann aber auch generell durch die Manipulationen in der Maulhöhle (Zahnsteinentfernung, Austrocknung der Schleimhäute, Reizung der Gingiva durch Sondierung, etc.) verursacht worden sein. Des Weiteren waren keine negativen Einflüsse der Mira-2-Ton Lösung feststellbar.

Ergebnisse:

Aufgrund der antibakteriellen Wirkung von Lactoferrin und EGCG wurde eine reduzierte Anhaftung von Plaquebakterien sowie ein vermindertes Bakterienwachstum und damit eine Reduktion der Plaquebildung erwartet. In Studien am Menschen konnte durch Verabreichung von EGCG-haltigen Tabletten ein signifikant niedrigerer Plaqueindex erreicht werden als in einer Kontrollgruppe, die Placebo-Tabletten erhielt (LIU und CHI, 2000). Allerdings enthielten die Tabletten außer EGCG noch andere Teepolyphenole, die möglicherweise ebenfalls eine Wirkung auf die Plaqueakkumulation hatten.

In Versuch I (Wirkstoff: Lactoferrin) ist der Plaqueindex der Lactoferringruppe an Tag 28 nur geringfügig niedriger (um 5%) als in der Kontrollgruppe. Diese Verminderung kann ein Hinweis auf eine mögliche Verringerung der Plaqueansammlung durch Lactoferrin sein. Es kann sich aber auch lediglich um einen Zufallsbefund handeln.

In Versuch II (Wirkstoff: EGCG) ist der Plaqueindex an Tag 28 in der EGCG-Gruppe nur um 3% geringer als in der Kontrollgruppe. Dieser Unterschied ist so gering, dass es sich vermutlich nicht um eine Auswirkung des EGCG handelt, sondern um eine zufällige Abweichung.

Die als Nebenbefund in beiden Versuchen sowohl in der Kontroll- als auch in der Wirkstoffgruppe festgestellte vergleichsweise geringe Plaqueansammlung an den Canini und an den 4.

Prämolaren des Unterkiefers (Zähne 304, 404, 308, 408) ist interessant. An diesen Zähnen wurden in beiden Gruppen auch ein geringerer Gingivitisindex und eine geringere Sondierungstiefe festgestellt als an den restlichen Zähnen.

Die verringerte Plaqueansammlung an diesen Zähnen ist vermutlich durch eine mechanische Säuberung bedingt. Beim Kieferschluss schieben sich bei physiologischer Gebissstellung die lingualen Flächen der oberen Backenzähne an den buccalen Flächen der unteren Zähne vorbei (Anisognathie), so dass es zum Abrieb der angesammelten Plaque kommt (NICKEL et al., 1995). Durch die geringere Plaqueakkumulation bleibt die Plaqueschicht dünner und beherbergt weniger der aggressiven anaerobe Bakterienspezies. Durch die geringere Plaquemenge und die veränderte Zusammensetzung kommt es zu einem geringeren Reiz auf das angrenzende Zahnfleisch und zu einer geringeren Entzündungsreaktion der Gingiva.

5.3.2.2.1.5 Zahnsteinindex

Der Zahnsteinindex wurde nur an Tag 28 der Versuche bestimmt. Zum Zeitpunkt Tag 0 war er durch die vorangegangene Zahnreinigung gleich 0.

Zahnstein formt sich auf gereinigten Zahnoberflächen innerhalb von wenigen Tagen durch die Interaktion von Phosphat-Ionen mit Calcium aus Speichel und Sulcusflüssigkeit.

Die Neubildung von Zahnstein nach einer Zahnreinigung wird in der Tiermedizin meist anhand des von Schiff modifizierten Volpe-Manhold-Index untersucht (BOYCE und LOGAN, 1994; LOGAN und BOYCE, 1994). Bei Verwendung dieses Index wird nur die Ausdehnung des Zahnsteins gemessen, die Dicke der Zahnsteinschicht bleibt unberücksichtigt. In Untersuchungen an Katzen wurde festgestellt, dass bereits vier Wochen nach der Zahnreinigung maximale Zahnstein-Index-Werte gemessen werden können. Messungen nach dieser Zeit ergaben keine Steigerungen der Zahnsteinindex-Werte mehr, so dass empfohlen wird, den Zahnsteinindex vier Wochen nach der Zahnreinigung zu bestimmen (BOYCE, 1992). Die danach zunehmende Dicke des Zahnsteines wird durch den verwendeten Index nicht berücksichtigt. Indices mit Erfassung der Dicke der Zahnsteinschicht sind schwierig durchzuführen und durch die mechanische Abspregung einzelner Zahnsteinfragmente, die ab einer gewissen Dicke der Zahnsteinschicht auftritt, mit vielen Fehlermöglichkeiten behaftet. Sie werden nicht empfohlen.

Eine Reduktion der Zahnsteinbildung wird durch verschiedene Maßnahmen versucht:

- ⇒ Verhinderung der Mineralisation von Plaque durch Beeinflussung des freien Calciums und Phosphats

- ⇒ Erniedrigung des pH-Wertes zur Erhöhung der Löslichkeit der Calcium- und Phosphatverbindungen
- ⇒ Reduzierung der Plaquebildung durch den Einsatz antibakterieller Substanzen und damit Entzug der Grundlage für die Zahnsteinbildung

Der zuletzt genannte Effekt wurde auch beim Einsatz von Lactoferrin und EGCG erwartet.

In Versuch I (Wirkstoff: Lactoferrin) hatte die Lactoferringruppe an Tag 28 einen um 7% geringeren Zahnsteinindex als die Kontrollgruppe. Dieser Unterschied kann auf eine geringere Zahnsteinbildung durch Lactoferrin hindeuten. Möglicher Mechanismus dafür wäre eine geringere Ansammlung von Plaque durch die antibakterielle Wirkung des Lactoferrin (der Plaqueindex der Lactoferringruppe war gegenüber der Kontrollgruppe um 5% verringert). Ein Zusammenhang des geringeren Zahnsteinindex mit der geringeren Plaqueakkumulation ist möglich. Ob diese Effekte tatsächlich durch Lactoferrin verursacht wurden, ist jedoch unklar.

In Versuch II konnte in der EGCG-Gruppe eine um 36% geringere Zahnsteinbildung festgestellt werden als in der Kontrollgruppe. Auch wenn der Unterschied statistisch nicht signifikant ist, ist diese Tendenz dennoch sehr interessant. Der Plaqueindex der EGCG-Gruppe war gegenüber der Kontrollgruppe nur geringgradig (3%) reduziert, so dass die geringere Plaquemenge nicht die einzige Ursache für die reduzierte Zahnsteinbildung sein kann. Möglicherweise kann EGCG die Mineralisation der Plaque verhindern in dem es als Chelator für Calcium- und Phosphat-Ionen wirkt.

Auffällig war in beiden Versuchen die jeweils sowohl in der Wirkstoffgruppe als auch in der Kontrollgruppe auftretende stärkere Zahnsteinbildung an den 3. und 4. Prämolaren des Oberkiefers (Zähne 107, 207). Sie ist vermutlich auf die Mündung des Ausführungsgänge der Glandula Parotis auf Höhe des 2. maxillaren Prämolaren (Zähne 106, 206) zurückzuführen. In der Nähe des Ausführungsganges findet eine vermehrte Aufnahme von Calcium und Phosphat in die Plaque statt als in Bereichen, die sich weiter entfernt befinden. Die Übersättigung der Plaque ist die Voraussetzung für die Mineralisation von partiell löslichen Calcium- und Phosphatmineralien.

5.3.2.2.1.6 Ergebnisse der Indices allgemein

Für die Anerkennung von chemischen Anti-Plaque-Agentien durch die VOHC oder die American Dental Association (ADA) werden verschiedene Anforderungen an die Plaque-, Zahnstein- und Gingivitisindices gestellt.

Der VOHC fordert mindestens eine 20%ige Reduktion des Plaque- und des Zahnsteinindex in der Wirkstoffgruppe gegenüber der Kontrollgruppe und zusätzlich einen statistisch signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) zwischen den Plaque- und Zahnsteinindices der Gruppen (VOHC, 2004). Die „American Dental Association Guidelines for acceptance of chemotherapeutic products for gingivitis control“ fordern mindestens eine 15%ige Reduktion des Gingivitisindex in der Wirkstoffgruppe gegenüber der Kontrollgruppe und ebenfalls einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (IMREY et al., 1994).

Diese Anforderungen des VOHC und der ADA wurden weder im LF-Versuch noch im EGCG-Versuch erfüllt.

Dennoch waren interessante Tendenzen zur Reduktion der Indices zu erkennen. EGCG reduzierte sowohl die Sondierungstiefe (um 5%) als auch den Plaqueindex (um 3%) und den Zahnsteinindex (um 36%) gegenüber der Kontrollgruppe deutlich.

Die Lactoferrin-Wirkung war etwas geringer, es war lediglich eine Reduktion der Plaque (um 5%) und des Zahnsteins (um 7%) im Vergleich zur Kontrollgruppe feststellbar.

5.4 Diskussion der bakteriologischen Untersuchungen

5.4.1 Diskussion der Methoden

5.4.1.1 Anzucht und Differenzierung der entnommenen Proben

Die zu den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 jedes Versuches entnommenen Proben (Tupferprobe und Papierspitzen) wurden bis zu ihrer Untersuchung am Tag nach der Probenentnahme bei Kühlschranktemperaturen in einem Anaerobiertopf konserviert. Dadurch wurden Veränderungen der Flora durch Wachstum bzw. Absterben von Keimen während der Lagerung weitgehend verhindert. Die Anzucht wurde auf Schafblutagarplatten vorgenommen. Diese bieten nicht allen Bakterien optimale Wachstumsbedingungen; es muss angenommen werden, dass Bakterien mit hohen Nährbodenansprüchen mit dieser Methode nicht sicher erfasst werden. Das Ausstreichen der Proben jeweils auf mehrere verschiedene (Selektiv-) Nährböden wäre jedoch über den Rahmen der angestrebten Untersuchungen hinausgegangen. Die Bebrütungsdauer betrug 48 (aerob) bzw. 72 (anaerob) Stunden. Für langsam wachsende Keime kann diese Zeit zu kurz sein, um Kolonien zu bilden. Da bei einer längeren Bebrütungsdauer Schwierigkeiten -wie das Überwuchern der Platten durch schnell und stark wachsende Keime sowie Schimmelbildung auf den Platten- auftraten, wurde diese Bebrütungsdauer trotz der Nachteile für die langsam wachsenden Keime gewählt. Aufgrund

des starken Bakterienwachstums auf den Platten (in der Regel $> 10^6$ Kolonien/Platte) wurde auf eine quantitative Untersuchung verzichtet.

Die Differenzierung der isolierten Einzelstämme erfolgte mit chemischen Identifizierungssystemen (api®-Systeme), die auf den Einsatz an humanmedizinischem Probenmaterial ausgerichtet sind. Dieses Identifizierungs-System wurde jedoch schon in ähnlichen Studien an Hunden und Katzen mit Erfolg eingesetzt (GRUET et al., 1995; CLARKE, 2001), und auch in dieser Arbeit stimmte die identifizierte Keimflora weitgehend mit der in der Literatur erwähnten überein (Tabelle 67 und Tabelle 68). Zur Kontrolle wurden die mit dem api®-System identifizierten Stämme stichprobenartig mittels Sequenzierung überprüft.

Die Anzucht der Keime aus dem Probenmaterial und die Subkultivierung bis hin zur Reinkultur waren sehr zeit-, personal- und materialaufwändig. Eine Untersuchung aller 18 Katzen pro Versuchszeitpunkt wäre unter den gegebenen Bedingungen nicht durchführbar gewesen, deshalb wurden jeweils zwei Katzen pro Gruppe als repräsentative Vertreter ausgewählt und genauer untersucht. Zur Erstellung des Grundstatus wurden jedoch an Tag 0 des Versuch I zusätzlich weitere Proben von acht Katzen untersucht, so dass zu diesem Zeitpunkt insgesamt Proben von zehn Katzen ausdifferenziert wurden.

Weitere Studien mit großen Tierzahlen zur Untersuchung der Maulhöhlenflora der Katze in der gesunden und in der erkrankten Maulhöhle wären interessant, um spezifische Indikatorkeime für Parodontalerkrankungen bei der Katze festlegen zu können.

5.4.1.2 Methodik der In-vitro-Untersuchungen

Die In-vitro-Untersuchungen der antibakteriellen Aktivität von LF und EGCG wurden ähnlich wie ein Agardiffusionstest zur Untersuchung der Hemmwirkung von Antibiotika gegen bestimmte Keime durchgeführt (ROLLE und MAYR, 1993). Als zu prüfende Keime wurden die Bakterien aus der Tupfer-Suspension bzw. der Rosenow-Bouillon einer der Versuchskatzen gewählt.

Die Präparation von Filterpapierscheiben mit Wirkstofflösung war problematisch, da diese nur sehr geringe Mengen (ca. 10 µl / Filterpapierscheibe) an Wirkstoff-Lösung aufnehmen konnten. Deshalb wurde die Methode mit der Lochplatte gewählt. Sie ermöglicht das Einbringen von 100 µl Lösung in das ausgestanzte Loch einer Agar-Platte. Das entspricht der antibakteriell wirkenden Konzentration der Wirkstoffe.

Die Durchführung des Agardiffusionstests mit LF als antibakteriell wirksame Substanz musste auf Müller-Hinton-Agar durchgeführt werden, da auf Blutagar keine Hemmwirkung sichtbar war. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass das in den Blutplatten

vorhandene Eisen die antibakterielle Wirkung des LF durch Eisensättigung so stark einschränkt, dass keine Hemmwirkung mehr feststellbar ist (NAIDU, 2000). Eine weitere Erklärung könnte sein, dass die Diffusion des LF in den Nährboden durch den komplex zusammengesetzten Blutagar unterbunden wird. Der Müller-Hinton-Agar ist ein häufig benutzter Nährboden für Antibiotikaresistenztestungen aerober und fakultativ anaerober nicht anspruchsvoller Keime. Er bietet vielen Bakterien schlechtere Wachstumsbedingungen als der Blutagar, das erklärt das schwächere und artenärmere Koloniewachstum der Maulhöhlenflora auf diesem Nährboden. Speziell die anaeroben Bakterien wachsen nur schlecht auf diesem Agar, so dass die Bestimmung der Hemmhofgröße auf den anerob bebrüteten Agar-Platten wegen des dünnen Wachstums nicht möglich war.

5.4.2 Diskussion der Ergebnisse

5.4.2.1 Erfassung des Grundstatus

Die gingivale Flora von gesunden Katzen besteht vorwiegend aus grampositiven aeroben Bakterien (NOLTE und EICKHOFF, 2003). In Tabelle 67 und Tabelle 68 sind die in der Literatur erwähnten Bakterien der Katzenmaulhöhle aufgelistet (MALLONEE et al., 1988; LOVE et al., 1990; HARVEY, 1991; ZETNER et al., 1993 a; CROSSLEY und PENMAN, 1995; HENNET, 1995 b; MIHALJEVIC und KLEIN, 1998; NORRIS und LOVE, 1999). Bakterien, die laut Literatur in der gesunden Maulhöhle gefunden werden, sind in den linken Spalten aufgelistet. Anders als in der Humanmedizin, gibt es bei Katzen noch keine wissenschaftlichen Beweise dafür, welche Keime Verursacher von Parodontopathien sind. Verschiedene Untersuchungen weisen jedoch darauf hin, dass bestimmte Bakterien bei parodontalen Erkrankungen häufiger isoliert werden als im gesunden Maul. Sie sind in den rechten Spalten der Tabelle 67 und der Tabelle 68 aufgelistet.

Die Ergebnisse des an den Versuchskatzen erhobenen Grundstatus stimmen zum großen Teil mit den Ergebnissen der anderen Untersucher überein. *Actinomyces species* und *Escherichia coli* konnten bei den Versuchskatzen jedoch nicht gefunden werden.

Generell gilt bei der Katze wie beim Menschen, dass sich die Bakterienflora bei parodontalen Erkrankungen von grampositiven aeroben Bakterien zu gramnegativen anaeroben Bakterien verschiebt (MALLONEE et al., 1988). In der Dissertation von ELSEBETT (2004) sind die Veränderungen der Bakterienflora bei parodontalen Erkrankungen und ihre Auswirkungen auf den Organismus nachzulesen.

Tabelle 67: Aerobe Bakterienflora der Katzenmaulhöhle laut Literatur

Systematische Einordnung	aus der gesunden Maulhöhle isolierte Spezies*	aus der erkrankten Maulhöhle isolierte Spezies*
Aerobe grampositive Kokken	<ul style="list-style-type: none"> • Streptococcus species • Staphylococcus species • Micrococcus species 	<ul style="list-style-type: none"> • Streptococcus adjacens • Streptococcus bovis • Streptococcus canis • Streptococcus dysgalactiae • Streptococcus mitis • Streptococcus oralis
Aerobe grampositive Stäbchen	<ul style="list-style-type: none"> • Actinomyces species • Actinomyces naeslundii • Actinomyces viscosus 	
Aerobe gramnegative Kokken	<ul style="list-style-type: none"> • Neisseria species 	
Aerobe gramnegative Stäbchen	<ul style="list-style-type: none"> • Aeromonas species • Capnocytophaga species • Enterobacteriaceae • Escherichia coli • Pasteurella multocida • Pseudomonas species 	<ul style="list-style-type: none"> • Pasteurella multocida

*: in beiden Spalten aufgeführte Bakterienspezies wurden von den Autoren unterschiedlich bewertet.

Tabelle 68: Anaerobe Bakterienflora der Katzenmaulhöhle laut Literatur

Systematische Einordnung	aus der gesunden Maulhöhle isolierte Spezies*	aus der erkrankten Maulhöhle isolierte Spezies*
Anaerobe grampositive Kokken		<ul style="list-style-type: none"> • Peptostreptococcus anaerobius • Streptococcus intermedius
Anaerobe grampositive Stäbchen	<ul style="list-style-type: none"> • Clostridium species • Clostridium villosus • Eubacterium species • Lactobacillus species • Propionibacterium species 	
Anaerobe gramnegative Kokken	<ul style="list-style-type: none"> • Veillonella species 	
Anaerobe gramnegative Stäbchen	<ul style="list-style-type: none"> • Bacteroides species • Campylobacter species • Fusobacterium species • Wolinella species 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacteroides species • Porphyromonas species

*: in beiden Spalten aufgeführte Bakterienspezies wurden von den Autoren unterschiedlich bewertet.

Die in Tabelle 69 aufgelisteten Bakterien-Spezies wurden in unserer Untersuchung des Grundstatus isoliert und sind bisher nicht in der Literatur erwähnt (in alphabetischer Reihenfolge).

Tabelle 69: In der Untersuchung des Grundstatus isolierte Bakterien, die bisher nicht in der Literatur erwähnt wurden

Aerobe Bakterien	Anaerobe Bakterien
<ul style="list-style-type: none"> • Acinetobacter Iwoffii • Actinobacillus lignersii • Aerococcus viridans • Arcanobacterium haemolytica • Arthrobacter species • Bacillus species • Brevibacterium species • Brevundimonas vesicularis • Burkholderia cepacia • Cellulomonas species • Corynebacterium species • Gemella morbillorum • Haemophilus aphrophilus • Lautropia species • Listeria species • Moraxella species • Rothia dentocariosa • Sphingomonas species • Streptomyces species • Weeksella species 	<ul style="list-style-type: none"> • Bifidobacterium species • Bilophila species • Prevotella species

Welche dieser Bakterien eine positive Korrelation zu Parodontalerkrankungen der Katze haben, bleibt zu klären.

5.4.2.2 Vergleich der Maulhöhlenflora an Tag 0 mit Tag 28

5.4.2.2.1 Allgemeines

Bei allen untersuchten Katzen liegt das Verhältnis aerober Bakterien zu anaeroben Bakterien zwischen 80:20 und 60:40. Die genaue Zusammensetzung der Maulhöhlenflora der Katzen variiert individuell etwas, bei einzelnen Tieren konnten wiederholt im Grundstatus selten vorkommende Bakterien isoliert werden, die für die jeweilige Katze typisch zu sein scheinen (z. B. *Arcanobacterium haemolyticum* bei Katze 1, Versuch 1). Keime, die fast bei allen Katzen isoliert wurden, sind die aeroben Spezies *Pasteurella*, *Moraxella*, *Staphylokokkus*, *Streptokokkus* und *Corynebacterium*, sowie die anaeroben Spezies *Eubacterium*, *Propionibacterium* und *Prevotella*.

5.4.2.2.2 Veränderung der Keimflora während des Lactoferrin-Versuches (Versuch I)

Im Versuch I sind bei keiner der untersuchten Katzen nennenswerte Unterschiede in der Verteilung der Bakterien auf aerobe und anaerobe Spezies zwischen den Zeitpunkten Tag 0 und Tag 28 sichtbar.

Eine aussagekräftige Veränderung der Flora (anaerob zu aerob, gramnegativ zu grampositiv oder Stäbchen zu Kokken sowie umgekehrt) innerhalb der Gruppe zwischen Tag 0 und Tag 28 konnte nicht festgestellt werden. Auch der Vergleich zwischen der Lactoferrin-Gruppe und der Kontrollgruppe lässt keine Unterschiede erkennen, die auf eine Veränderung der Flora durch den Wirkstoff schließen lassen.

Die antibakterielle Wirkung des LF gegen Maulhöhlenkeime ist *in vitro* mehrfach nachgewiesen worden (NAIDU, 2000). *In-vivo*-Untersuchungen über die antibakterielle Wirksamkeit von LF alleine gegen die Maulhöhlenflora gibt es nicht. KIRSTILÄ et al (1996) kombinierten LF mit Lactoperoxidase und Lysozym in einer Zahnpasta und untersuchten unter anderem deren Einfluss auf die Mundhöhlenflora des Menschen. Sie konnten keine Veränderungen der Mundhöhlenflora durch die Wirkstoffe feststellen. Aus der Abbildung 23 ist ersichtlich, dass eine deutliche Hemmwirkung des LF auf die Maulhöhlenflora der Katzen *in vitro* besteht. Diese ist bei der *In-vivo*-Anwendung nicht erkennbar. Mögliche Gründe dafür sind eine zu kurze Kontaktdauer des LF mit der Maulhöhlenflora, zu geringe LF-Konzentration auf den Maulschleimhäuten oder die Inaktivierung des LF in der Maulhöhle, z.B. durch Eisen.

5.4.2.2.3 Veränderung der Keimflora während des (-)-Epigallocatechingallat-Versuches (Versuch II)

Im Versuch II zeigen drei der vier untersuchten Katzen zwischen dem Zeitpunkt Tag 0 und Tag 28 eine Zunahme des Anteils der Anaerobier an der Gesamtflora. Bei der Katze 4 bleibt das Verhältnis der aeroben zu den anaeroben Bakterien gleich.

Eine aussagekräftige Veränderung der Flora (anaerob zu aerob, gramnegativ zu grampositiv oder Stäbchen zu Kokken sowie umgekehrt) innerhalb der Gruppe von Zeitpunkt Tag 0 auf Tag 28 konnte nicht festgestellt werden. Auch der Vergleich zwischen der EGCG-Gruppe und der Kontrollgruppe zeigt keine erkennbaren Unterschiede, die auf eine Veränderung der Flora durch den Wirkstoff schließen lassen.

Die antibakterielle Wirksamkeit von EGCG gegenüber Keimen der Mundhöhlenflora des Menschen ist *in vitro* belegt (SAKANAKA et al., 1989; SAKANAKA et al., 1996; HIRASAWA et al., 2002). In einer *In-vivo*-Studie zum Einsatz von EGCG in der Mundhöhle des Menschen konnte mit oral appliziertem EGCG eine Verminderung des Anteils der anaeroben schwarz pigmentierten gramnegativen Stäbchen an der gesamten isolierten Bakterienflora festgestellt werden (HIRASAWA et al., 2002). Allerdings wurde EGCG in dieser Studie nicht über die Nahrung aufgenommen, sondern mit einem, das EGCG langsam freisetzenden, HPC (Hydroxypropylcellulose)-Streifen lokal in periodontale Taschen appliziert. Damit konnte ein länger andauernder EGCG-Einfluss erreicht werden, als es über die Verabreichung im Futter möglich ist. Da die bakterizide Wirkung des EGCG zeitabhängig ist (HIRASAWA et al., 2002), spielt die Kontaktdauer des EGCG mit den Maulhöhlenbakterien eine wichtige Rolle.

5.4.2.2.4 Zusammenfassung

Mit den verwendeten Methoden konnte weder durch LF noch durch EGCG eine Auswirkung auf die Maulhöhlenflora festgestellt werden. Die Anzahl der untersuchten Katzen ist jedoch mit nur zwei Tieren pro Gruppe sehr niedrig gewählt.

5.4.2.3 In-vitro-Untersuchung der antibakteriellen Aktivität von Lactoferrin und (-)-Epigallocatechingallat

5.4.2.3.1 In-vitro-Untersuchung der antibakteriellen Aktivität von Lactoferrin

Die *In-vitro*-Untersuchung der antibakteriellen Wirksamkeit von LF auf die Maulhöhlenflora der Katzen ergab auf dem aerob bebrüteten Müller-Hinton-Agar eine dosisabhängige, deutliche Hemmhofbildung. Veränderungen des Nährbodens waren nicht feststellbar.

Zumindest ein Teil der antibakteriellen Wirkung scheint eisenabhängig zu sein, denn auf dem eisenhaltigen Blutagar war keine Hemmwirkung auf das Wachstum feststellbar. Auf der anaeroben Platte war aufgrund der geringen Keimdichte keine Aussage über eine antibakterielle Wirkung des LF gegenüber der gewachsenen Flora zu treffen (siehe „Grenzen des Tests“ in ROLLE/MAYR (1993)).

5.4.2.3.2 In-vitro-Untersuchung der antibakteriellen Aktivität von (-)-Epigallocatechingallat

Die Untersuchung der antibakteriellen Wirksamkeit von EGCG auf die Maulhöhlenflora der Katzen ergab sowohl auf aerob als auch auf anaerob bebrüteten Blutagarplatten eine dosisabhängige, deutliche Hemmhofbildung.

EGCG zeigte deutliche Veränderungen des Nährbodens in Form von Farbveränderungen. Der verfärbte Bereich scheint aber nicht allein für die Hemmwirkung verantwortlich zu sein, denn teilweise reicht die Verfärbung weiter als die Zone der Wachstumshemmung. Ob die Hemmhofbildung alleine durch EGCG oder zusätzlich auch durch die Veränderung des Nährbodens zustande kommt, bleibt ungeklärt. Berichte anderer Autoren über die Verfärbung von Blutagar durch EGCG liegen nicht vor.

5.4.2.3.3 Zusammenfassung

Sowohl Lactoferrin als auch EGCG wirken in vitro dosisabhängig deutlich antibakteriell gegen die Maulhöhlenflora von Katzen.

5.5 Zum Antioxidativen Status

Zur Beurteilung der Auswirkungen der eingesetzten Wirkstoffe Lactoferrin und EGCG auf den Antioxidativen Status der Katzen wurden die Vitamine C und E sowie die Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) im Serum bestimmt. Des Weiteren wurden die Enzyme Creatin-Kinase (CK) und Aspartat-Aminotransferase (AST) als Indikatoren für oxidative Schäden untersucht.

Die antioxidative Wirkung des EGCG beruht auf seiner Eigenschaft als effektiver Radikalfänger und Chelator von Metallionen (WISEMAN et al., 1997; HIGDON und FREI, 2003). Lactoferrin wirkt ebenfalls über die Bindung von Eisen-Ionen antioxidativ sowie über verschiedene weitere Mechanismen, die in der Dissertation von SCHWARZER (2004) genauer ausgeführt sind.

5.5.1 Vitamine C und E

Um sich vor Oxidationsschäden zu schützen, hat der Körper ein antioxidatives Abwehrsystem entwickelt. Die Vitamine C und E gehören zum nicht-enzymatischen Teil dieses Abwehrsystems.

Vitamin E ist fettlöslich und wirkt vor allem in Membranen und anderen Lipoproteinen durch Abbruch von Kettenreaktionen antioxidativ. Vitamin C ist wasserlöslich und wirkt vor allem im Gewebe und Plasma als Radikalfänger. Durch die Aufnahme natürlicher Antioxidantien mit dem Futter (in diesem Fall LF und EGCG) kann es zur Entlastung des körpereigenen antioxidativen Abwehrsystems kommen. Diese Entlastung spiegelt sich in erhöhten Serumkonzentrationen der antioxidativ wirksamen Vitaminen E und C wider.

Ergebnisse:

In Versuch I (Wirkstoff: Lactoferrin) fand in beiden Gruppen zwischen Tag 0 und Tag 28 eine Reduktion der Serum-Konzentrationen der Vitamine E und C statt. Bei beiden Vitaminen war die Reduzierung in der Lactoferringruppe stärker als in der Kontrollgruppe. Es gelang nicht, die Vitamin C- und E-Konzentrationen im Serum der Katzen durch Lactoferrin zu erhöhen.

In Versuch II (Wirkstoff: EGCG) war ebenfalls in beiden Gruppen eine Reduktion der Vitamin E-Werte feststellbar. Diese Reduzierung war in beiden Gruppen annähernd gleich groß. Auch beim Vitamin C ist in beiden Gruppen eine Reduktion feststellbar, sie ist in der Kontrollgruppe jedoch wesentlich deutlicher als in der EGCG-Gruppe.

EGCG scheint hier einen schützenden Effekt vor vermehrtem Vitamin C-Verbrauch zu haben. Ein Einfluss des EGCGs auf den Vitamin E-Haushalt war nicht feststellbar.

5.5.2 Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

Die TEAC gibt die Summe aller Antioxidantien im Serum (Vitamin C und E, Proteine, Bilirubin, Harnsäure, Caeruloplasmin, Transferrin) wieder. Die Höhe der TEAC ist von der Zufuhr bzw. Synthese von Antioxidantien im Körper und vom Verbrauch der Antioxidantien durch freie Radikale abhängig. Durch die Verabreichung der antioxidativ wirkenden Substanzen LF und EGCG wurde eine erhöhte TEAC gegenüber der Kontrollgruppe, die keine zusätzlichen Antioxidantien erhielt, erwartet.

In Versuch I (Wirkstoff: Lactoferrin) blieb die TEAC in der Kontrollgruppe konstant, in der Wirkstoffgruppe fiel sie um 5% ab. Diese Reduktion kann zufällig sein oder auf eine vermehrte Belastung durch oxidativen Stress in der LF-Gruppe hindeuten.

In Versuch II (Wirkstoff: EGCG) fiel die TEAC in der Kontrollgruppe deutlich ab, in der EGCG-Gruppe stieg sie geringgradig an. Der Unterschied zwischen den Gruppen war statistisch signifikant. EGCG scheint die TEAC erhöhen zu können.

5.5.3 Enzyme Creatin-Kinase und Aspartat-Aminotransferase

Die beiden Enzyme Creatin-Kinase (CK) und Aspartat-Aminotransferase (AST) wurden als Indikatoren für eventuelle radikal-induzierte Schäden im Körper gemessen. STÖHRER et al. (2001) untersuchten die CK und die AST bei Jungtieren, um die Folgen des erhöhten oxidativen Stresses während der Geburt zu untersuchen. Sie führten die erhöhten Enzymaktivitäten im Plasma auf eine Belastung mit Sauerstoffradikalen zurück. In Versuchen an Schlittenhunden (HINCHCLIFF et al., 2000) konnte eine positive Korrelation zwischen der Lipidperoxidation im Plasma und der CK-Aktivität gefunden werden, so dass hohe CK-Werte auch ein Indikator für eine starke Lipidperoxidation sein können. Die durch Sauerstoffradikale bedingten Schäden sind jedoch schwer erfassbar, da sie oft erst nach langer Zeit sichtbar werden.

Durch den Einsatz der antioxidativ wirksamen Substanzen Lactoferrin und EGCG wurde ein Schutz vor oxidativ bedingten Schäden und infolge dessen eine reduzierte Aktivität der Indikator-Enzyme CK und AST erwartet.

Da diese Enzyme jedoch nicht spezifisch für oxidativ bedingte Schäden an Leber oder Muskulatur sind, müssen die Werte immer unter der Beachtung anderer möglicher Einflussfaktoren betrachtet werden

CK

Die CK ist ein muskelspezifisches Enzym, das sich sowohl im Herz- als auch im Skelettmuskel findet.

In Versuch I (Wirkstoff: Lactoferrin) sinkt die CK-Konzentration im Plasma in beiden Gruppen von Tag 0 auf Tag 28 ab. In der Lactoferringruppe sinkt sie jedoch deutlich stärker ab als in der Kontrollgruppe. Dieser Abfall kann durch den protektiven Effekt des Lactoferrins bedingt sein.

In Versuch II (Wirkstoff: EGCG) fallen die CK-Konzentrationen ebenfalls in beiden Gruppen zwischen Tag 0 und Tag 28 deutlich ab, hier ist die Reduktion jedoch in der Kontrollgruppe

deutlich stärker als in der EGCG-Gruppe. EGCG scheint demnach keinen schützenden Effekt auszuüben.

In beiden Versuchen ist auffällig, dass alle CK-(Mittel-)Werte über dem Referenzbereich bei Katzen (bis 130 U/l, vereinzelt auch bis 190 U/l) lagen. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass die Blutentnahme zur Bestimmung der Enzyme in Narkose stattfand. Zur Narkoseeinleitung wurde eine intramuskuläre Injektion benötigt, die zur Zerstörung von Muskelzellen an der Injektionsstelle führt und eine CK-Erhöhung zur Folge hat (KRAFT und DÜRR, 1997).

Ein Anstieg der CK-Aktivität um einige 100 U/l wird noch als gering bewertet. Bei massiven Muskelschäden kommt es zu Anstiegen bis auf mehrere 1000 U/l, so dass die hier aufgetretenen CK-Erhöhungen noch als gering zu bezeichnen sind.

AST

Die AST ist kein organspezifisches Enzym, sie kann in zahlreichen Geweben und Organen angetroffen werden. Hohe Aktivitäten werden aber vor allem in Herz- und Skelettmuskeln und in der Leber gefunden. Bei Katzen steigt sie im Fall von Lebererkrankungen schon in frühen Stadien deutlich an. Bei Muskelerkrankungen ist sie bei der Katze im Gegensatz zu anderen Spezies nur selten erhöht.

In Versuch I (Wirkstoff: Lactoferrin) sinkt die AST-Konzentration in beiden Gruppen von Tag 0 auf Tag 28 ab. In der Lactoferringruppe ist diese Reduktion signifikant stärker als in der Kontrollgruppe. Lactoferrin scheint demnach vor Schäden an Muskeln und Herz zu schützen.

In Versuch II (Wirkstoff: EGCG) sinkt die AST-Konzentration ebenfalls in beiden Gruppen ab, der Abfall ist in der EGCG-Gruppe etwas deutlicher. Aufgrund des geringen Unterschiedes zwischen den Werten der EGCG- und der Kontrollgruppe gibt die AST keinen Hinweis auf eine protektive Wirkung des EGCG vor oxidativ bedingten Schäden.

5.5.4 Zusammenfassung

Auswirkung von Lactoferrin auf den Antioxidativen Status der Katzen:

Auch wenn nur wenige Veränderungen statistisch signifikant waren, konnten dennoch deutliche Hinweise auf eine Verringerung des Vitamin-Abfalls durch LF gefunden werden. Ebenso war eine Verringerung der Indikatorenzyme feststellbar, die die LF-Wirkung

untermauern. Das Ergebnis der TEAC fällt aus der Reihe, weil es in der Lactoferringruppe geringfügig niedriger ist als in der Kontrollgruppe.

Auswirkungen von EGCG auf den antioxidativen Status der Katzen:

Obwohl nur wenige Veränderungen statistisch signifikant waren, konnte in der EGCG-Gruppe bei Betrachtung der TEAC und des Vitamin E ein deutlich höherer Antioxidativer Status festgestellt werden als in der Kontrollgruppe. Die Vitamin C-Werte waren gegenüber der Kontrollgruppe nicht verändert. Die Indikatorenzyme sanken in beiden Gruppen gleich stark, so dass durch EGCG kein protektiver Effekt vor Schäden, die durch CK und AST angezeigt werden, festgestellt werden konnte.

5.6 Schlussfolgerungen aus der Diskussion

Beide eingesetzten Substanzen konnten beim In-vivo-Einsatz keine signifikanten Verbesserungen der Parameter der Maulhöhlengesundheit bei Katzen hervorrufen. Es gibt jedoch Hinweise, dass beide Substanzen- EGCG mehr als LF- die Maulgesundheit verbessern können. Wie die In-vitro-Untersuchungen der antibakteriellen Aktivität von LF und EGCG gezeigt haben, sind diese Substanzen gegen die Mischflora der Katzenmaulhöhle gut wirksam. Beide Substanzen zeigten in vitro eine deutliche Hemmwirkung auf das Wachstum der Keimflora.

Die geringe In-vivo-Wirksamkeit von LF und EGCG kann durch verschiedene Ursachen bedingt sein.

Insbesondere bei Fleischfressern ist die Verabreichung von hauptsächlich lokal wirkenden Substanzen über das Futter wegen der kurzen Einwirkdauer problematisch. Die Kontaktzeit des Wirkstoffes mit der Maulschleimhaut und den Zähnen war bei den Versuchen durch die nur zweimalige tägliche Futteraufnahme sehr kurz. Diese Zeit hätte durch die mehrmalige tägliche Fütterung kleinerer Portionen verlängert werden können. Dadurch wäre aber auch die Menge an Wirkstoff pro Fütterung geringer und die Verabreichungsform weniger praxisrelevant gewesen. Um eine deutlich längere Kontaktzeit der Wirkstoffe mit der Maulhöhle zu erreichen, muss die Applikationsform verändert werden.

Die eingesetzten Dosen der Wirkstoffe wurden orientierend ausgewählt, da zur Prophylaxe von Parodontopathien weder LF noch EGCG zuvor bei Katzen eingesetzt worden waren. Die gewählte Dosis ist vermutlich zu niedrig gewesen, um in vivo eine deutliche Wirksamkeit zeigen zu können. SATO et al. (1996) setzten LF bei FIV-infizierten Katzen in einer Dosierung von 40 mg/kg KM lokal auf der Maulschleimhaut ein und konnten damit positiv auf sonst therapieresistente Stomatitiden einwirken. In unseren Versuchen wurde nur etwa $\frac{1}{4}$ dieser

Menge LF eingesetzt, so dass in weiteren Untersuchungen eine Dosiserhöhung sinnvoll zu sein scheint. Die EGCG-Dosis war aufgrund der nicht vollständig auszuschließenden Toxizität der phenolischen Verbindung sehr niedrig gewählt. Da EGCG in der eingesetzten Menge keinen messbaren Blutspiegel erzeugte und weder klinische noch labordiagnostische Hinweise auf Intoxikationserscheinungen feststellbar waren, kann für weitere Untersuchungen auch eine höhere EGCG-Dosierung in Betracht gezogen werden.

Der In-vitro-Einsatz der natürlichen antibakteriellen Substanzen LF und EGCG war vielversprechend. Es ist zu wünschen, dass die beiden Wirkstoffe in anderen Applikationsformen -etwa in Dental-Adhäsiv-Gels, in Zahnpasten oder auch in Kauknochen inkorporiert- geprüft werden.

Eine statistisch signifikante Verbesserung des antioxidativen Status der Katzen konnte mit den eingesetzten Wirkstoffen nicht erreicht werden. Es waren jedoch Tendenzen erkennbar, die für eine positive Beeinflussung des Antioxidativen Status sprechen.

Bei der lokalen Abwehrreaktion des Körpers gegen Plaquebakterien freigesetzte Radikale tragen oft zur Gingivitisentstehung bei. Eine Wirkung der Antioxidantien in der Maulhöhle in Form einer Reduktion der Gingivitis konnte jedoch nicht festgestellt werden. Die Gründe dafür sind vermutlich ebenfalls in einer zu geringen Kontaktdauer der Wirkstoffe mit dem entzündeten Gewebe zu suchen.

6 Zusammenfassung

Parodontopathien sind die am häufigsten vorkommenden Erkrankungen von Hund und Katze. Vor allem bei Katzen beschränken sich Prophylaxemaßnahmen häufig auf eine wiederholte Plaque- und Zahnsteinentfernung in Narkose. Um die Intervalle zwischen diesen Zahnreinigungen zu verlängern, wird versucht, über speziell dafür hergestellte Futtermittel die Neubildung von Plaque und Zahnstein zu reduzieren. In der vorliegenden Arbeit wurden zu diesem Zweck Katzen zwei antibakteriell wirkende Substanzen über das Futter verabreicht und ihre Auswirkung auf die Maulhöhlengesundheit der Katzen sowie ihre Wirksamkeit gegen die aus der Maulhöhle isolierten Keime *in vitro* untersucht. Als Nebenzielgröße wurde die Auswirkung der Substanzen auf den Antioxidativen Status der Katzen beurteilt.

Die Untersuchungen erfolgten in Form von zwei Fütterungsversuchen.

In Versuch I wurde der Einfluss von Lactoferrin untersucht. Lactoferrin ist ein eisenbindendes Glykoprotein, das in der Milch verschiedener Säugetierspezies und in diversen Körperflüssigkeiten vorkommt. Lactoferrin hat, neben verschiedenen anderen Wirkungen, antibakterielle und antioxidative Eigenschaften.

In Versuch II wurde der Einfluss von Epigallocatechingallat untersucht. Bei Epigallocatechingallat handelt es sich um ein Catechin, das aus den unfermentierten Blättern des Teestrauches *Camellia sinensis* gewonnen wird (Grüntee-Extrakt). Epigallocatechingallat hat, wie Lactoferrin, unter anderem antibakterielle und antioxidative Eigenschaften.

Die zu untersuchenden Substanzen wurden auf ein handelsübliches Trockenfutter für Katzen aufgesprüht, so dass jedes Kilogramm wirkstoffhaltiges Futter für den ersten Versuch 517 mg Lactoferrin und für den zweiten Versuch 227 mg Epigallocatechingallat enthielt.

Für jeden der beiden Fütterungsversuche standen 18 Katzen zur Verfügung, die in zwei Gruppen (Wirkstoff- und Kontrollgruppe) mit je 9 Katzen eingeteilt wurden. Zu Beginn der jeweils 28 Tage dauernden Versuche wurde bei allen Tieren der Gesundheitszustand der Maulhöhle anhand verschiedener Indices und Untersuchungen beurteilt sowie Proben für die bakteriologische Untersuchung aus der Maulhöhle entnommen. Zusätzlich wurde Blut zur Bestimmung des Antioxidativen Status abgenommen.

Anschließend wurde eine gründliche Reinigung der Zähne mit vollständiger Entfernung von Plaque und Zahnstein durchgeführt („Clean-Tooth“-Modell).

In den folgenden 28 Tagen erhielt eine Gruppe wirkstoffhaltiges Futter (in Versuch I Lactoferrin, in Versuch II Epigallocatechingallat), die andere Gruppe jeweils wirkstofffreies Kontrollfutter.

Nach 28 Tagen wurden alle Katzen erneut untersucht und die zu Beginn des Versuches durchgeführten Untersuchungen wiederholt.

Die an Tag 0 und Tag 28 des jeweiligen Versuches ermittelten Werte wurden innerhalb und zwischen der Wirkstoff- bzw. Kontrollgruppe verglichen, um Auswirkungen von Lactoferrin und Epigallocatechingallat auf die untersuchten Parameter überprüfen zu können. Die Versuche I und II wurden dabei isoliert betrachtet.

Weder Lactoferrin noch Epigallocatechingallat konnten in der verwendeten Dosierung und Applikationsart die Maulhöhlengesundheit der Katzen statistisch signifikant verbessern. Beim Einsatz beider Substanzen waren jedoch Tendenzen zur Verbesserung der Maulhöhlengesundheit durch die Wirkstoffe erkennbar. Diese Tendenzen waren bei Verabreichung von Epigallocatechingallat deutlicher als bei Lactoferrin.

Die Ergebnisse der In-vitro-Untersuchung der antibakteriellen Aktivität der Substanzen waren vielversprechend. Sowohl Lactoferrin als auch Epigallocatechingallat konnten das Wachstum aus der Maulhöhle der Katzen entnommener Bakterien in vitro verhindern. Aus diesem Grund erscheinen weitere Untersuchungen zum Einsatz von Lactoferrin und Epigallocatechingallat zur Prophylaxe von Parodontopathien bei Katzen sinnvoll. Um bessere In-vivo-Ergebnisse zu erzielen, sollte eine Veränderung der Dosis und unter Umständen auch eine Veränderung der Applikationsform erwogen werden. Die Verabreichung sollte höhere Konzentrationen bzw. eine längere Kontaktzeit der Substanzen in der Maulhöhle ermöglichen.

Der als Nebenzielgröße untersuchte Antioxidative Status konnte durch beide Substanzen beeinflusst werden. Einige Parameter des Antioxidativen Status zeigten eine tendenzielle, andere sogar signifikante Verbesserungen gegenüber der Kontrollgruppe, so dass davon auszugehen ist, dass sowohl Lactoferrin als auch Epigallocatechingallat den Antioxidativen Status in der eingesetzten Dosierung positiv beeinflussen.

7 Summary

Sonja Gorissen

Employment of Lactoferrin and Epigallocatechingallat in the prevention of periodontal disease in cats

Periodontal disease is the most common disease in dogs and cats. Especially in cats, prophylaxis is usually limited to professional dental cleaning under anaesthesia. Special diets which reduce plaque and calculus accumulation have been formulated to extend the period of time between professional dental cleanings. The present study was conducted to determine the effect of two antibacterial agents in a regular dry diet on the oral health of cats.

In addition, their in vitro antibacterial activity and their effect on the antioxidant status of cats was investigated.

The study was performed in two separate trials over the period of 28 days each.

The first trial determined the effect of lactoferrin. Lactoferrin is an iron-binding glycoprotein, found in milk and various other body-fluids of different species. Besides a variety of other qualities Lactoferrin has antibacterial and antioxidant properties.

In the second trial, the effect of Epigallocatechingallat was determined. Epigallocatechin is a catechin yielded from the unfermented leaves of the tea plant *Camellia sinensis* (green tea extract). Epigallocatechingallat as well has antibacterial and antioxidant properties.

Lactoferrin and Epigallocatechingallat were sprayed on dry catfood.

The supplemented diet for the first trial contained 517 mg/kg Lactoferrin, the supplemented diet for the second trial contained 227 mg/kg Epigallocatechingallat.

18 cats were used in each feeding trial and assigned to either a control (n=9) or a treatment group (n=9).

At the beginning of each trial the oral health status of the cats was examined and bacterial cultures were obtained. In addition, blood was collected for determination of the antioxidant status. The examinations were followed by a coronal cleaning (scaling and polishing) to ensure the test period began with no plaque or calculus present on tooth surfaces (“clean tooth”-model).

During the following 28 days, the treatment group received the prepared diet (trial 1: Lactoferrin, trial 2: Epigallocatechingallat) and the control group received the placebo diet.

At day 28 of each trial all evaluations were repeated.

Data collected on day 0 and day 28 were compared within and between the both groups of each trial to determine the influence of the agent on the examined parameters.

Neither Lactoferrin nor Epigallocatechingallat could significantly improve the oral health of cats in the applied dose and manner. Still there were tendencies seen in the investigation of both agents that indicate an improvement of oral health. These tendencies were more obvious with Epigallocatechingallat than with Lactoferrin.

The in-vitro-investigations of the antibacterial activity showed promising results. Lactoferrin as well as Epigallocatechingallat inhibited the growth of feline oral bacteria in vitro.

Further investigations of the efficacy of Lactoferrin and Epigallocatechingallat in the prevention of periodontal disease are necessary. On the basis of observed tendencies the administration of higher concentrations and prolonged contact of the active agent with the oral mucosa is assumed to result in more pronounced in-vivo-results.

Both tested agents had some effect on the antioxidant status of the cats. Some parameters of the antioxidant status showed slight, others significant improvement of the antioxidant status compared to the control group. It can be assumed that Lactoferrin as well as Epigallocatechingallat positively influence the antioxidant status in the applied dose and manner.

8 Literaturangaben

- Ahmad N., Feyes D. K., Nieminen A.-L., Agarwal R., Mukhtar H. (1997)
Green Tea Constituent Epigallocatechin-3-Gallate and Induction of Apoptosis and Cell Cycle Arrest in Human Carcinoma Cells.
J Natl Cancer Inst 89: 1881-1886.
- Aller S. (1993)
Dental Home Care and Preventive Strategies.
Semin vet med surg (small anim) 8: 204-212.
- Alugupalli K. R., Kalfas S. (1997)
Characterization of the lactoferrin-dependant inhibition of the adhesion of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Prevotella intermedia and Prevotella nigrescens to fibroblasts and to a reconstituted basement membrane.
APMIS 105: 680-688.
- Alugupalli K. R., Kalfas S., Edwardsson S., Forsgren A., Arnold R. R., Naidu A. S. (1994)
Effect of lactoferrin on interaction of Prevotella intermedia with plasma and subepithelial matrix proteins.
Oral Microbiol Immunol 9: 174-179.
- Anon E. (1996)
1995 Companion Animal Study.
University of Minnesota and Mark Morris Institute, Topeka, Kansas.
- Arnold R. R., Brewer M., Gauthier J. J. (1980)
Bactericidal activity of human lactoferrin: sensitivity of a variety of microorganisms.
Infect Immun 28: 893-898.
- Arnold R. R., Cole M. F., McGhee J. R. (1977)
A bactericidal effect for human lactoferrin.
Science 197: 263-265.
- Arnold R. R., Russell J. E., Champion W. J., Gauthier J. J. (1981)
Bactericidal activity of human lactoferrin: influence of physical conditions and metabolic state of the target microorganism.
Infect Immun 32: 655-660.
- Auvil J. D. (2002)
Managing Dental Health in Companion Animals: Oral Health Care Options.
The North American Veterinary Conference, Orlando, Florida, USA, 2002.
- Balentine D. A., Wiseman S. A., Bouwens L. C. (1997)
The Chemistry of Tea Flavonoids.
Crit Rev Food Sci Nutr 37: 693-704.
- Bellamy W., Takase M., Yamauchi K., Wakabayashi H., Kawase K., Tomita M. (1992)
Identification of the bactericidal domain of lactoferrin.
Biochim Biophys Acta 1121: 130-136.

Bellamy W., Wakabayashi H., Takase M., Kawase K., Shimamura S., Tomita M. (1993)
Killing of *Candida albicans* by lactoferricin B, a potent antimicrobial peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin.
Med Microbiol Immunol 182: 97-105.

Boyce E. N. (1992)
Feline Experimental Models for Control of Periodontal Disease.
Vet Clin North Am: Small Animal Pract 22: 1309-1321.

Boyce E. N., Logan E. I. (1994)
Oral health assessment in dogs: study design and results.
J Vet Dent 11: 64-70.

Brock J. H. (2002)
The physiology of lactoferrin.
Biochem Cell Biol 80: 1-6.

Bullen J. (1976)
Iron-binding proteins and other factors in milk responsible for resistance to *Escherichia coli*.
Ciba Found Symp 42: 149-169.

Bullen J. (1981)
The significance of iron in infection.
Rev Infect Dis 3: 1127-1138.

Bush B. M. (1998)
Einleitung.
Zahnhygiene bei Hund und Katze, Hill's Pet Nutrition Inc.: 1.

Cao Y., Cao R., Brakenhielm E. (2002)
Antiangiogenic mechanisms of diet-derived polyphenols.
J Nutr Biochem 13: 380-390.

Caturla N., Vera-Samper E., Villalain J., Mateo C. R., Micol V. (2003)
The relationship between the antioxidant and the antibacterial properties of galloylated catechins and the structure of phospholipid model membranes.
Free Radic Biol Med 34: 648-662.

Chen L., Lee M.-J., Li H., Yang C. (1997)
Absorption, Distribution, and Elimination of Tea Polyphenols in Rats.
Drug Metab Dispos 25: 1045-1050.

Chierici R. (2001)
Antimicrobial Actions of Lactoferrin.
Adv Nutr Res 10: 247-269.

Chimura T., Hirayama T., Nakahara M. (1993)
In vitro antimicrobial activities of lactoferrin, its concomitant use with cefpodoxime proxetil and clinical effects of cefpodoxime proxetil.
Jpn J Antibiot 46: 482-485.

Chow H. H., Cai Y., Alberts D. S., Hakim I., Dorr R., Shahi F., Crowell J. A., Yang C. S., Hara Y. (2001)

Phase I pharmacokinetic study of tea polyphenols following single-dose administration of epigallocatechin gallate and polyphenon E.
Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 10: 53-58.

Chow H. H., Cai Y., Hakim I. A., Crowell J. A., Shahi F., Brooks C. A., Dorr R. T., Hara Y., Alberts D. S. (2003)

Pharmokokinetics and safety of green tea polyphenols after multiple-dose administration of epigallocatechin polyphenon E in healthy individuals.
Clin Cancer Res 9: 3312-3319.

Clarke D. E. (1999)

The Crystalline Components of Dental Calculus in the Domestic Cat.
J Vet Dent 16: 165-168.

Clarke D. E. (2001)

Clinical and Microbiological Effects of Oral Zinc Ascorbate Gel in Cats.
J Vet Dent 18: 177-183.

Cleland P. W. (2000)

Nonsurgical Periodontal Therapy.
Clin Tech Small Anim Pract 15: 221-225.

Colmery B., Frost P. (1986)

Periodontal Disease, Etiology and Pathogenesis.
Vet Clin North Am: Small Anim Pract 16: 817-833.

cp-pharma (2002)

Produktinformation Herbax.

Crossley D. A., Penman S. (1995)

Manual of Small Animal Dentistry.
BSAVA, Cheltenham, UK, 2nd edition : 1.

Culham N., Rawlings J. M. (1998)

Oral Malodor and its Relevance to Periodontal Disease in the Dog.
J Vet Dent 15: 165-168.

De Bowes L. J. (1998 a)

The Effects of dental disease on systemic disease.
Vet Clin North Am: Small Anim Pract 28: 1057-1062.

De Bowes L. J. (1998 b)

Grundlagen der Zahnhygiene und -behandlung bei Hund und Katze.
Zahnhygiene bei Hund und Katze, Hills Pet Nutrition Inc.: 5-10.

De Bowes L. J., Mosier D., Logan I. E., Harvey C. E., Lowry S., Richardson D. C. (1998 c)
Zum Zusammenhang zwischen Periodontalerkrankungen und histologisch nachgewiesenen
Läsionen in multiplen Organen bei 45 Hunden.
Zahnhygiene bei Hund und Katze, Hills Pet Nutrition Inc. 1: 27-32.

Dietrich U. B. (1976)
Dental care: Prophylaxis and therapy.
Canine Pract 3: 44-53.

Dobrescu M. V. (1993)
Anwendung des Parodontalstatus in der Veterinärstomatologie.
T U 48: 389-390.

Dufresne C. J., Farnworth E. R. (2001)
A review of latest research findings of the health promotion properties of tea.
J Nutr Biochem 12: 404-421.

Ebner J. (in Vorbereitung).
Vet Med Diss, München.

Eisenmenger E., Zetner K. (1982)
Tierärztliche Zahnheilkunde.
Verlag Paul Parey, Berlin : 4-26.

Eisenmenger E., Zetner, K (1984)
Die Gefährdung des Tierarztes bei der Ultraschallzahnsteinentfernung.
Kleintierpraxis 29: 35-38.

Eisner E. R. (1989)
Periodontal disease in pets: The pathogenesis of a preventable problem.
Vet Med 84: 97-104.

Eisner E. R. (2003)
Professional and Home Dental Care of the Adult Dog and Cat.
8th World Veterinary Dental Congress, Kyoto, Japan (2003).

Ellison R. T., Giehl T. J. (1991)
Killing of gram-negative bacteria by lactoferrin and lysozyme.
J Clin Invest 88: 1080-1091.

Ellison R. T., Giehl T. J., LaForce F. M. (1988)
Damage of the outer membrane of enteric gram-negative bacteria by lactoferrin and
transferrin.
Infect Immun 56: 2774-2781.

Elsbett K. (2004)
Untersuchungen zum Einfluss von Vitamin C und Epigallocatechin Gallat in Kombination
mit Lactoferrin auf die Zahngesundheit der Katze.
Vet Med Diss, München.

- Emily P., Penman S. (1990)
Handbook of small animal dentistry.
Pergamon Press, New York, 1st edition : 42.
- Fine D. H., Hammond B. F., Loesche W. J. (1998)
Clinical use of antibiotics in dental practice.
Int J Antimicrob Agents 9: 235-238.
- Frauen M. (2001)
Analytik kosmetisch wirksamer Pflanzenextrakte mit der Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie (LC/MS).
Diss Chemie, Hamburg.
- Frost W. (1986)
Feline Dental Disease.
Vet Clin of North Am: Small Anim Pract 16: 851-873.
- Fujiki H., Suganuma M., Okabe S., Sueoka E., Suga K., Imai K., Nakachi K., Kimura S. (1999)
Mechanistic Findings of Green Tea as Cancer Preventive for Humans.
Proc Soc Exp Biol Med 220: 225-228.
- Gorrel C. (1995 a)
Periodontology.
ESVAS Vet Dent Course.
- Gorrel C. (1995b)
Prevention and treatment of periodontal disease in small animals.
Vet Ann 35: 195-202.
- Gorrel C. (2000)
Home Care: Products and Techniques.
Clin Tech Small Anim Pract 15: 226-231.
- Gorrel C. (2001)
The Effects of Diet on Periodontal Disease.
26th WSAVA World Congress, Vancouver, British Columbia, Canada (2001).
- Gorrel C., Bierer T.L. (1999)
Long Term Effects of a Dental Hygiene Chew on the Periodontal Health of Dogs.
J Vet Dent 16: 109-113.
- Gorrel C., Inskeep G., Inskeep T. (1998)
Benefits of a `Dental Hygiene Chew` on the Periodontal Health of Cats.
J Vet Dent 15: 135-138.
- Gorrel C., Rawlings J. M. (1996 a)
The role of a `dental hygiene chew` in maintaining periodontal health in dogs.
J Vet Dent 13: 31-34.

- Gorrel C., Rawlings J. M. (1996 b)
The Role of Tooth-brushing and Diet in the Maintenance of Periodontal Health in Dogs.
J Vet Dent 13: 139-143.
- Graham H. N. (1992)
Green Tea Composition, Consumption, and Polyphenol Chemistry.
Prev Med 21: 334-350.
- Gray-Owen S. D., Schryvers A. B. (1996)
Bacterial transferrin and lactoferrin receptors.
Trends Microbiol 4: 185-191.
- Griffiths E., Humphreys J. (1977)
Bacteriostatic effect of human milk and bovine colostrum on *Escherichia coli*: importance of bicarbonate.
Infect Immun 15: 396-401.
- Groves M. L. (1960)
The isolation of a red protein from milk.
J Am Chem Soc 82: 3345-3350.
- Gruet P., Gaillard C., Boisrame B., Duffaut D., Grimoud A. M., Camy G. (1995)
Use of an Oral Antiseptic Bioadhesive Tablet in Dogs.
J Vet Dent 12: 87-91.
- Hale F. A. (2001)
Homecare Products and how they work.
26th WSAVA World Congress, Vancouver, British Columbia, Canada (2001).
- Hale F. A. (2002)
Homecare products-evaluating the claims.
16th Veterinary Dental Forum, Savannah, Georgia, USA (2002).
- Hale F. A. (2003)
Home Care for the Veterinary Dental Patient.
J Vet Dent 20: 52-54.
- Harari J., Gustafson S., Meinkoth K. (1991)
Dental bacteremia in Cats.
Feline Pract 19: 27-29.
- Harmsen M. C., Swart P. J., de Bethune M. P., Pauwels R., De Clercq E., The T. H., Meijer D. K. (1995)
Antiviral effects of plasma and milk proteins: lactoferrin shows potent activity against both human immunodeficiency virus and human cytomegalovirus replication in vitro.
J Infect Dis 172: 380-388.
- Harrup G. J., Saxton C. A., Bost J. S. (1983)
Inhibition of plaque growth by zinc salts.
J Perio Res 12: 634-642.

- Harvey C. E. (1991)
Oral inflammatory disease in cats.
JAAHA, small anim pract 27: 585-591.
- Harvey C. E. (1994)
The history of veterinary dentistry part one: from the earliest record to the end of the 18th century.
J Vet Dent 11: 135-139.
- Harvey C. E., Shofer F. S., Laster L. (1996)
Correlation of Diet, Other Chewing Activities and Periodontal Disease in North American Client-Owned Dogs.
J Vet Dent 13: 101-105.
- Hattori M., Kusumoto I. T., Namba T., Ishigami T., Hara Y. (1990)
Effect of tea polyphenols on glucan synthesis by glucosyltransferase from *Streptococcus mutans*.
Chem Pharm Bull (Tokyo) 38: 717-720.
- Hayatsu H., Inada N., Kakutani T., Arimoto S., Negishi T., Mori K., Okuda T., Sakata I. (1992)
Suppression of Genotoxicity of Carcinogens by (-)-Epigallocatechin Gallate.
Prev Med 21: 370-376.
- Hennet P. (1999)
Review of Studies Assessing Plaque Accumulation and Gingival Inflammation in Dogs.
J Vet Dent 16: 23-29.
- Hennet P., Delille B., Davot J. L. (1995 a)
Oral Malodor in Dogs: Measurement Using a Sulfide Monitor.
J Vet Dent 12: 101-103.
- Hennet P., Delille B., Davot J. L. (1998)
Oral malodor measurements on a tooth surface of dogs with gingivitis.
Am J Vet Res 59: 255-257.
- Hennet P. R. (1991)
Anaerobes in periodontal disease in the dog: a review.
J Vet Dent 8: 18-21.
- Hennet P. R. (1995 b)
Periodontal Disease and Oral Microbiology.
In: Manual of Small Animal Dentistry. D. A. Crossley and S. Penman. BSAVA, Cheltenham, UK 2nd edition: 105-113: 105-113.
- Hennet P. R. (2002)
Effectiveness of a Dental Gel to Reduce Plaque in Beagle Dogs.
J Vet Dent 19: 11-14.

- Higdon J. V., Frei B. (2003)
Tea Catechins and Polyphenols: Health Effects, Metabolism, and Antioxidant Functions.
Crit Rev Food Sci Nutr 43: 89-143.
- Hinchcliff K. W., Reinhart G., DiSilvestro R., Reynolds A., Blostein-Fujii A., Swenson R. A. (2000)
Oxidant stress in sled dogs subjected to repetitive endurance exercise.
Am J Vet Res 61: 512-517.
- Hirasawa M., Takada K. (2004)
Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*.
J Antimicrob Chemother 53: 225-229.
- Hirasawa M., Takada K., Makimura M., Otake S. (2002)
Improvement of periodontal status by green tea catechin using a local delivery system: a clinical pilot study.
J Periodontal Res 37: 433-438.
- Hollman P., Tijburg L., Yang C. (1997)
Bioavailability of Flavonoids from Tea.
Crit Rev Food Sci Nutr 37: 719-738.
- Huang Y., Zhang A., Lau C.-W., Chen Z.-Y. (1998)
Vasorelaxant effects of purified green tea epicatechin derivatives in rat mesenteric artery.
Life Sciences 63: 275-283.
- Hull P. S. (1980)
Chemical inhibition of plaque.
J Clin Periodontol 7: 431-442.
- Iams (2002)
Diätetisches Management von Zahnerkrankungen bei Hund und Katze.
"News" Veterinärmedizinisches Magazin der The Iams Company II: 2-6.
- Ikigai H., Nakae T., Hara Y., Shimamura T. (1993)
Bactericidal catechins damage the lipid bilayer.
Biochim et Biophys Acta: 132-136.
- Imrey P. B., Chilton N. W., Pihlstrom B. L., Proskin H. M., Kingman A., Listgarten M. A., Zimmerman S. O., Ciancio S. G., Cohen M. E., D'Agostino R. B., et al. (1994)
Recommended revisions to American Dental Association guidelines for acceptance of chemotherapeutic products for gingivitis control. Report of the Task Force on Design and Analysis in Dental and Oral Research to the Council on Therapeutics of the American Dental Association.
J Periodontal Res 29: 299-304.
- Ingham K. E., Gorrel C., Bierer T. L. (2002 a)
Effect of a Dental Chew on Dental Substrates and Gingivitis in Cats.
J Vet Dent 19: 201-204.

Ingham K. E., Gorrel C., Blackburn J. M., Farnsworth W. (2002 b)
The Effect of Toothbrushing on Periodontal Disease in Cats.
J Nutr 132: 1740S-1741S.

Interscan-Corporation (2003)
Instruction Manual Halimeter.
Interscan Corporation, Chatsworth, USA.

Johansson B. (1960)
Isolation of an iron-containing red protein from human milk.
Act Chem Scan 14: 510-512.

Johnson R. B., Cox E. R., Lepine A. J. (2002)
Recent Dental Advances for Companion Animals Through Dietary Means.
The North American Veterinary Conference, Orlando, Florida, USA, 2002.

Johnston N. (1998)
Acquired feline oral cavity disease.
In Pract 4: 171-179.

Johnston N. (2001)
Oral Anatomy and Charting.
WSAVA World Congress, Vancouver, British Columbia, Canada (2001).

Kamphues J., Leibetsrieder J., Schneider D. (1999)
Supplemente zu Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung.
Verlag M&H Schaper, Alfeld-Hannover, 9. Auflage : 242-244.

Kang W. S., Lim I. H., Yuk D. Y., Chung K. H., Park J. B., Yoo H. S., Yun Y. P. (1999)
Antithrombotic activities of green tea catechins and (-)-epigallocatechin gallate.
Thromb Res 96: 229-237.

Kawakami H., Dosako S., Lonnerdal B. (1990)
Iron uptake from transferrin and lactoferrin by rat intestinal brush-border membrane vesicles.
Am J Physiol 258: G 535-541.

Kienzle E., Opitz B., Earle K. E., Smith P. M., Maskell I. E., Iben C. (1998)
An improved method for the estimation of energy in pet foods.
J Nutr 128: 2806S-2808S.

Kirstilä V., Lenander-Lumikari M., Söderling E., Tenovu J. (1996)
Effects of oral hygiene products containing lactoperoxidase, lysozyme and lactoferrin on the composition of whole saliva and on subjective oral symptoms in patients with xerostomia.
Acta Odontol Scand 54: 391-397.

Klinge B. (1997)
Current Concepts in Periodontal disease.
World Veterinary Dental Congress 1997, Birmingham, UK, 1997.

- Kolb E. (1989)
Lehrbuch der Physiologie der Haustiere.
Gustav Fischer Verlag, Jena, 4. überarb. Auflage :200-205.
- Kono K., Tatara I., Takeda S., Arakawa K., Hara Y. (1994)
Antibacterial activity of epigallocatechin gallate against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.
Kansenshogaku Zasshi. 68: 1518-1522.
- Kraft W., Dürr U. M. (1997)
Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.
Schattauer Verlag, Stuttgart, 4. überab. und erw. Auflage.
- Kraft W., Hirschberger J. (2000)
Kleintierkrankheiten, Band I Innere Medizin.
Verlag E. Ulmer, Stuttgart, 3. Auflage : 882.
- Krahwinkel T., Willershausen B. (2000)
The effect of sugar-free green tea chew candies on the degree of inflammation of the gingiva.
Eur J Med Res 5: 463-467.
- Laur P. (2003)
Wirkung von Lactoferrin auf den Organismus
neonataler Hundewelpen.
Vet Med Diss, München.
- Lee M.-J., Maliakal P., Chen L., Meng X., Bondoc F. Y., Prabhu S., Lambert G., Mohr S.,
Yang C. S. (2002)
Pharmacokinetics of tea catechins after ingestion of green tea and (-)-epigallocatechin-3-
gallate by humans: formation of different metabolites and individual variability.
Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 11: 1025-1032.
- Lepine A. J., Murray S. M., Cox E. R. (2003)
Clinical Investigation of Dental Diet Efficacy in the Senior Dog.
8th World Veterinary Dental Congress, Kyoto, Japan 2003.
- Lindhe J., Hamp S. E., Löe H. (1975)
Plaque induced periodontal disease in beagle dogs.
J Periodontal Res 10: 243-255.
- Listgarten M. A. (1988)
The role of dental plaque in gingivitis and periodontitis.
J Clin Periodontol 15: 485-487.
- Liu T., Chi Y. (2000)
[Experimental study on polyphenol anti-plaque effect in human] Article in Chinese.
Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi 35: 383-384.

- Logan E. I. (1998 a)
Zahnpflegeprodukte; Leitfaden zur Wirksamkeit, Sicherheit und Anwendung. .
Zahnhygiene bei Hund und Katze, Hill's Pet Nutrition Inc: 11-16.
- Logan E. I. (1998 b)
Erkrankungen im Bereich der Mundhöhle bei Katzen.
Zahnhygiene bei Hund und Katze, Hill's Pet Nutrition Inc.: 33-36.
- Logan E. I., Boyce E.N., Berg M., Coffman L., Hefferen J.J. (1997)
Effects of dietary form on plaque and calculus accumulation and gingival health in cats,
methodology and results.
5th World Veterinary Dental Congress, Birmingham, England, 1997.
- Logan E. I., Boyce E. N. (1994)
Oral Health Assessment in Dogs: Parameters and Methods.
J Vet Dent 11: 58-63.
- Logan E. I., Davenport D. J., Richardson D. C. (1998 c)
Die Bedeutung der Ernährung für die Zahngesundheit beim Hund.
Zahnhygiene bei Hund und Katze, Hill's Pet Nutrition Inc. : 17-20.
- Logan E. I., Finney O., Hefferen J.J (2002)
Effects of a Dental Food on Plaque Accumulation and Gingival Health in Dogs.
J Vet Dent 19: 15-28.
- Logan E. I., Hefferen J. J. (1996)
Zahn- und Mundhygiene durch Fütterungsmaßnahmen: Untersuchungsmethodik und
Ergebnisse bei der Katze.
Zahnhygiene bei Hund und Katze, Hill's Pet Nutrition Inc.: 37-41.
- Love D. N., Vekselstein R., Collings S. (1990)
The Obligate and Facultatively Anaerobic Bacterial Flora of the Normal Feline Gingival
Margin.
Vet Microbiol 22: 267-275.
- Lund E., Armstrong J., Kirk C., Kolar L., Klausner J. (1999)
Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary
practices in the United States.
JAVMA 214: 1336-1341.
- Makimura M., Hirasawa M., Kobayashi K., Indo J., Sakanaka S., Taguchi T., Otake S. (1993)
Inhibitory effect of tea catechins on collagenase activity.
J Periodontol 64: 630-633.
- Mallonee D. H., Harvey C. E., Venner M., Hammond B. F. (1988)
Bacteriology of periodontal disease in the cat.
Archs Oral Biol 33: 677-683.

- Marchetti M., Longhi C., Conte A. P., Pisani S., Valenti P., Seganti L. (1996)
Lactoferrin inhibits herpes simplex virus type 1 adsorption to vero cells.
Antiviral Res 29: 221-231.
- Mc Abee D. D., Esbensen K. (1993)
Binding and endocytosis of apo- and holo-lactoferrin by isolated rat hepatocytes.
J Biol Chem 266: 23624-23631.
- Mihaljevic S.-Y., Klein B. U. (1998)
Die Rolle von Oralstreptokokken als Indikatorkeime bei Parodontalerkrankungen von Hunden und Katzen.
Kleintierpraxis 43: 899-910.
- Miller B. R., Harvey C. E. (1994)
Compliance with oral hygiene recommendations following periodontal treatment in client-owned dogs.
J Vet Dent 11: 18-19.
- Miller N. J., Rice-Evans C., Davies M. J., Gopinathan V., Milner A. (1993)
A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates.
Clin Sci 84: 407-412.
- Mills A. W. (1992)
Oral-dental disease in cats.
Vet Clin North Am: Small Anim Pract 22: 1297-1307.
- Mischke R., Amtsberg G., Beckmann G., Schmidt H., Nolte I. (1992)
Wirksamkeit und Verträglichkeit von Clindamycin als begleitende Therapie von Gingivitis und Periodontitis nach Zahnsteinentfernung beim Hund.
Kleintierpraxis 37: 451-492.
- Naidu A. S. (2000)
Lactoferrin: Natural, Multifunctional, Antimicrobial.
CRC Press, Boca Raton, Florida, USA : 15-42.
- Naidu A. S., Arnold R. R. (1994)
Lactoferrin interaction with salmonellae potentiates antibiotic susceptibility in vitro.
Diagn Microbiol Infect Dis. 20: 69-75.
- Nakayama M., Suzuki K., Toda M., Okubo S., Hara Y., Shimamura S. (1993)
Inhibition of the infectivity of influenza virus by tea polyphenols.
Antiviral Res 21: 289-299.
- Naumann C., Bassler R. (1988)
Die chemische Untersuchung von Futtermitteln Band III: Methodenbuch.
Verlag J. Naumann-Neudamm.

- Nickel R., Schummer A., Seiferle E. (1995)
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band II (Habermehl K.-H., Vollmerhaus B., Wilkens H. (Hrsg.)).
Berlin, Blackwell Wissenschafts-Verlag, 7. unveränd. Auflage, : 77-87.
- Niemiec B. A. (2003)
Professional Teeth Cleaning.
J Vet Dent 20: 175-180.
- Nimmagudda R., Bagchi D., Bagchi M., Tran M., Steijns J., Braun S. (1999)
Cytoprotection by lactoferrin in oxygen radical mediated gastrointestinal injury.
Biochem Arch 15: 323-336.
- Nolte I., Eickhoff M. (2003)
Krankheiten der Maulhöhle In: Katzenkrankheiten-Klinik und Therapie (Hrsg. Kraft W., Dürr U.M.). Verlag M.& H. Schaper, Alfeld-Hannover, 5. Auflage : 722-740.
- Nonnecke B. J., Smith K. L. (1984)
Inhibition of mastitis bacteria by bovine milk apo-lactoferrin evaluated by in vitro microassay of bacterial growth.
J Dairy Sci 67: 606-613.
- Norris J. M., Love D. N. (1999)
Associations amongst three feline Porphyromonas species from the gingival margin of cats during periodontal health and disease.
Vet Microbiol 65: 195-207.
- Ohmori Y., Ito M., Kishi M., Mizutani H., Katada T., Konishi H. (1995)
Antiallergic Constituents from Oolong Tea Stem.
Biol Pharm Bull 18: 683-686.
- Okamoto M., Leung K. P., Ansai T., Sugimoto A., Maeda N. (2003)
Inhibitory effects of green tea catechins on protein tyrosine phosphatase in Prevotella intermedia.
Oral Microbiol Immunol 18: 192-195.
- Okubo S., Toda M., Hara Y., Shimamura T. (1991)
[Antifungal and fungicidal activities of tea extract and catechin against Trichophyton].
Nippon Saikingaku Zasshi 46: 509-514.
- Osada K., Takahashi M., Hoshina S., Nakamura M., Nakamura S., Sugano M. (2001)
Tea catechins inhibit cholesterol oxidation accompanying oxidation of low density lipoprotein in vitro.
Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 128: 153-164.
- Otake S., Makimura M., Kuroki T., Nishihara Y., Hirasawa M. (1991)
Anticaries Effects of Polyphenolic Compounds from Japanese Green Tea.
Caries Res 25: 438-443.

- Persson S., Edlund M.-B., Claesson R., Carlsson J. (1990)
The formation of hydrogen sulfide and methylmercaptan by oral bacteria.
Oral Microbiol Immunol 5: 195-201.
- Plumb C. D. (2002)
Veterinary Drug Handbook.
Iowa State Univ Press, 4th Edition.
- Pollmeier S. (1994)
Der Einfluss von Politurmaßnahmen nach Zahnsteinentfernung auf die Neubildung von Plaque und Zahnstein im Hundegebiss.
Vet Med Diss, Berlin.
- Raederstorff D. G., Schlachter M. F., Elste V., Weber P. (2003)
Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats.
J Nutr Biochem 14: 326-332.
- Rainard P. (1993)
Activation of the classical pathway of complement by binding of bovine lactoferrin to unencapsulated *Streptococcus agalactiae*.
Immunology 79: 648-652.
- Ramfjord S. P. (1959)
Indices for prevalence and incidence of periodontal disease.
J Periodontol 30: 51-95.
- Rawlings J. M., Culham N. (1998)
Studies of Oral Malodor in the Dog.
J Vet Dent 15: 169-172.
- Reichart P. (1991)
Krankheiten der Zähne und des Kiefers, In: *Katzenkrankheiten. Klinik und Therapie* (Hrsg. Kraft W., Dürr U.M.). Verlag H&M Schaper, Alfeld-Hannover, 3. Auflage : 275-287.
- Rodriguez-Caso C., Rodriguez-Agudo D., Sanchez-Jimenez F., Medina M. A. (2003)
Green tea epigallocatechin-3-gallate is an inhibitor of mammalian histidine decarboxylase.
Cell Mol Life Sci 60: 1760-1763.
- Rolle M., Mayr A. (1993)
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.
Enke Verlag, Stuttgart, 6. Auflage : 524-525.
- Saito H., Miyakawa H., Tamura Y., Shimamura S., Tomita M. (1991)
Potent bactericidal activity of bovine lactoferrin hydrolysate produced by heat treatment at acidic pH.
J Dairy Sci 74: 3724-3730.

- Sakanaka S., Aizawa M., Kim M., Yamamoto T. (1996)
Inhibitory effects of green tea polyphenols on growth and cellular adherence of an oral bacterium, *Porphyromonas gingivalis*.
Biosci Biotechnol Biochem 60: 745-749.
- Sakanaka S., Kim M., Taniguchi M., Yamamoto T. (1989)
Antibacterial Substances in Japanese Green Tea Extract against *Streptococcus mutans*, a Cariogenic Bacterium.
Agric Biol Chem 53: 2307-2311.
- Sakanaka S., Sato T., Kim M., Yamamoto T. (1990)
Inhibitory Effects of Green Tea Polyphenols on Glucan Synthesis and Cellular Adherence of Cariogenic Streptococci.
Agric Biol Chem 54: 2925-2929.
- Sato R., Inanami O., Tanaka Y., Takase M., Naito Y. (1996)
Oral administration of bovine lactoferrin for treatment of intractable stomatitis in feline immunodeficiency virus (FIV)-positive and FIV-negative cats.
Am J Vet Res 57: 1443-1446.
- Sato R., Kato E., Miyazaki Y., Tatesawa H., Sato J., Hayasawa H., Naito Y. (2002)
Regulatory effects of bovine lactoferrin on neutrophil functions in cats.
Biochem Cell Biol 80: 144.
- Scannapieco F. A. (1998)
Periodontal Disease as a Potential Risk Factor for Systemic Diseases.
J Periodontol: 841-850.
- Schäfer C. (2002)
Unerwünschte Wirkungen von Plaque-Anfärbemitteln.
prophylaxe impuls 6: 12-16.
- Schwarzer J. (2004)
Einfluss probiotischer Substanzen auf den antioxidativen Status von neugeborenen Hundewelpen.
Vet Med Diss, München.
- Scully C., El-Maaytah M., Porter S. R., Greenman J. (1997)
Breath odor: etiopathogenesis, assessment and management.
Eur J Oral Sci 105: 287-293.
- Shipp A. D., Fahrenkrug P. (1992)
Practitioners Guide to Veterinary Dentistry.
Dr. Shipp's Laboratories, Beverly Hills, California, USA : 47-59.
- Simone A., Jensen L., Setser C., Smith M., Suelzer M. (1994)
Assesment of oral malodor in dogs.
J Vet Dent 11: 71-73.

- Steijns J. M., van Hooijdonk A. C. M. (2000)
Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin.
Br J Nutr 84, Suppl.: S11-S17.
- Stohrer M., Lutz S., Stangassinger M. (2001)
Antioxidativer Status von Neugeborenen und Jungtieren.
8. Symposium: Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier,
Jena/Thüringen.
- Studer E., Stapley R. B. (1973)
The role of dry foods in maintaining health teeth and gums in the cat.
Vet Med Small Anim Clin 68: 1124.
- Swezey R. R., Aldridge D. E., LeValley S. E., Crowell J. A., Hara Y., Green C. E. (2003)
Absorption, tissue distribution and elimination of 4-[(3)h]-epigallocatechin gallate in beagle
dogs.
Int J Toxicol 22: 187-193.
- Tenovuo J., Illukka T., Vähä-Vahe T. (2000)
Non-immunoglobuline Defense Factors in Canine Saliva and Effects of a Tooth Gel
Containing Antibacterial Enzymes.
J Vet Dent 17: 136-140.
- Tenovuo J., Lumikari M., Soukka T. (1991)
Salivary lysozyme, lactoferrin and peroxidase: antibacterial effects on cariogenic bacteria and
clinical applications in preventive dentistry.
Proc Finn Dent Soc 87: 197-208.
- Tholen M., Hoyt R. F. (1990)
Oral pathology In: Small Animal Oral Medicine and Surgery (eds. M. J. Bojrab and M.
Tholen). Lea&Febiger, Philadelphia, USA :42: 42.
- Toda M., Okubo S., Ohnishi R., Shimamura T. (1989)
Antibacterial and bactericidal activities of Japanese green tea.
Nippon Saikingaku Zasshi 44: 669-672.
- Toda M., Okubu S., Ikigai H., Shimamura S. (1990)
Antibacterial and anti-hemolysin activities of tea catechins and their structural relatives.
Nippon Saikingaku Zasshi 45: 561-566.
- Tomita M., Bellamy W., Takase M., Yamauchi K., Wakabayashi H., Kawase K. (1991)
Potent antibacterial peptides generated by pepsin digestion of bovine lactoferrin.
J Dairy Sci 74: 4137-4142.
- Tomita M., Takase M., Wakabayashi H., Bellamy W. (1994)
Antimicrobial peptides of lactoferrin.
Adv Exp Med Biol 357: 209-218.

- Tomita M., Wakabayashi H., Yamauchi K., Teraguchi S., Hayasawa H. (2002)
Bovine lactoferrin and lactoferricin derived from milk: production and applications.
Biochem Cell Biol 80: 109-112.
- Tromp J. A., Jansen J., Pilot T. (1986 a)
Gingival health and frequency of tooth brushing in the beagle dog model.
J Clin Periodontol 13: 164-168.
- Tromp J. A., van Rijn L. J., Jansen J. (1986 b)
Experimental gingivitis and frequency of tooth brushing in the beagle dog model.
J Clin Periodontol 13: 190-194.
- Tsuchiya H. (1999)
Effects of green tea catechins on membrane fluidity.
Pharmacology 59: 34-44.
- Tsuchiya H. (2001)
Stereospecificity in membrane effects of catechins.
Chem Biol Interact 134: 41-54.
- Ullmann U., Haller J., Decourt J. P., Girault N., Girault J., Richard-Caudron A. S., Pineau B., Weber P. (2003)
A single ascending dose study of epigallocatechingallat in healthy volunteers.
J Int Med Res 31: 88-101.
- Visca P., Berlutti F., Vittorioso P., Dalmastrì C., Thaller M., Valenti P. (1989)
Growth and adsorption of *Streptococcus mutans* 6715-13 to hydroxyapatite in the presence of lactoferrin.
Med Microbiol Immunol 178: 69-79.
- VOHC (2004)
Veterinary Oral Health Council, Protocols and Submissions.
www.vohc.org/protocol.htm.
- Vorland L. H., Ulvatne H., Andersen J., Haukland H. H., Rekdal O., Svendsen J. S., Gutteberg T. J. (1999)
Antibacterial Effects of Lactoferricin B.
Scand J Infect Dis 31: 179-184.
- Vuilleumier J. P., Keller H. E., Gysel D., Hunziger F. (1983)
Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations Part I: The fat soluble vitamins A and E, and β -carotene.
Int J Nutr Res 53: 265-272.
- Wakabayashi H., Abe S., Okutomi T., Tansho S., Kawase K., Yamaguchi H. (1996)
Cooperative anti-Candida effects of lactoferrin or its peptides in combination with azole antifungal agents.
Microbiol Immunol 40: 821-825.

- Wang H., Provan G. J., Helliwell K. (2000)
Tea flavonoids: their functions, utilisation and analysis.
Trends Food Sci Technol 11: 152-160.
- Watson A. (1994)
Diet and periodontal disease in dogs and cats.
Aust Vet J 71: 313-318.
- Weinberg E. D. (2001)
Human lactoferrin: a novel therapeutic with broad spectrum potential.
J Pharm Pharmacol 53: 1303-1310.
- Weisburger J. H. (1997)
Tea and health: a historical perspective.
Cancer Lett 114: 315-317.
- White D. J. (1997)
Dental calculus: recent insights into occurrence, formation, prevention, removal and oral health effects of supragingival and subgingival deposits.
Eur J Oral Sci: 508-522.
- Wiggs R. B., Lobprise H. B. (1997)
Veterinary Dentistry - Principles & Practice.
Lippincott-Raven, Philadelphia, USA.
- Wiggs R. B., Lobprise H. B., Tholen M. A. (1994)
Clinical evaluation of SofScale™ Calculus Scaling Gel in dogs and cats.
J Vet Dent 11: 9-13.
- Wiseman S. A., Balentine D., Frei B. (1997)
Antioxidants in Tea.
Crit Rev Food Sci Nutr 37: 705-718.
- Wu H. F., Monroe D. M., Church F. C. (1995)
Characterisation of the glycosaminoglycan-binding region of lactoferrin.
Arch Biochem Biophys 317: 85-92.
- Yamaguchi K., Honda M., Ikigai H., Hara Y., Shimamura T. (2002)
Inhibitory effects of (-)-epigallocatechin gallate on the life cycle of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1).
Antiviral Res 53: 19-34.
- Yamauchi K., Toida T., Kawai A., Nishimura S., Teraguchi S., Hayasawa H. (2000 a)
Mutagenicity of bovine lactoferrin in reverse mutation test.
J Toxicol Sci 25: 63-66.
- Yamauchi K., Toida T., Nishimura S., Nagano E., Kusuoka O., Teraguchi S., Hayasawa H., Shimamura S., Tomita M. (2000 b)
13-Week oral repeated administration toxicity study of bovine lactoferrin in rats.
Food Chem Toxicol 38: 503-512.

- Yamauchi K., Tomita M., Giehl T. J., Ellison R. T. (1993)
Antibacterial activity of lactoferrin and a pepsin-derived lactoferrin peptide fragment.
Infect Immun 61: 719-728.
- Yang C., Chen L., Lee M.-J., Balentine D., Kuo M., Schantz S. P. (1998)
Blood and Urine Levels of Tea Catechins after Ingestion of Different Amounts of Green Tea
by Human Volunteers.
Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 7: 351-354.
- Yang C., Kim S., Yang G.-Y., Lee M.-J., Liao J., Chung J. Y., Ho C.-T. (1999 a)
Inhibition of Carcinogenesis by Tea: Bioavailability of Tea Polyphenols and Mechanisms of
Actions.
Proc Soc Exp Biol Med 220: 213-217.
- Yang C., Lee M.-J., Chen L. (1999 b)
Human Salivary Tea Catechin Levels and Catechin Esterase Activities: Implication in Human
Cancer Prevention Studies.
Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 8: 83-89.
- Yoon N. A., Newman M. G. (1980)
Antimicrobial effect of fluorides on *Bacteroides melaninogenicus* subspecies and *Bacteroides*
asaccharolyticus.
J Clin Periodontol 7: 489-494.
- You S. Q. (1993)
[Study on feasibility of Chinese green tea polyphenols (CTP) for preventing dental caries].
Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi 28: 197-199.
- Zetner K. (1994)
Fortschritte in der Tier-Zahnheilkunde.
Waltham International Focus Dossier: 3-20.
- Zetner K. (2002)
Chronisch-inflammatorische Mundhöhlenerkrankungen und Forl's bei der Katze.
Vet-Med Report Sonderausgabe V6: 6.
- Zetner K., Jelinek H., Steurer I. (1993 a)
Zusammenhang zwischen mikrobieller Flora, Parodontalstatus und pH-Wert der
Zahnoberfläche bei Katzen.
Prakt Tierarzt 9: 824-826.
- Zetner K., Thiemann G. (1993 b)
Testung der antimikrobiellen Wirksamkeit von Clindamycin bei Erkrankungen der
Mundhöhle.
Prakt Tierarzt: 227-234.
- Zhao W. H., Asano N., Hu Z. Q., Shimamura T. (2003)
Restoration of antibacterial activity of beta-lactams by epigallocatechin gallate against beta-
lactamase-producing species depending on location of beta-lactamase.
J Pharm Pharmacol 55: 735-740.

Zhao W. H., Hu Z. Q., Okubo S., Hara Y., Shimamura S. (2001)
Mechanism of synergy between epigallocatechin gallate and beta-lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.
Antimicrob Agents Chemother 45: 1737-1742.

9 Anhang

9.1 Blutbilder der Katzen vor Versuchsbeginn

Tabelle 70: Rotes Blutbild und Thrombozytenzahlen der Katzen vor Versuchsbeginn

Katzen-Nummer	Erythrozyten (x10 ¹² /l)	Hämoglobin (mmol/l)	Hämatokrit (%)	Thrombozyten (x10 ⁹ /l)
1	9,72	9,01	43,9	315
2	9,39	8,82	40,3	190
3	8,36	7,56	36,0	290
4	8,45	8,43	39,0	260
5	9,62	8,08	37,9	280
6	8,76	7,28	35,6	330
7	9,61	8,76	41,0	325
8	7,39	7,19	35,0	360
9	9,91	9,22	43,0	240
10	9,26	8,67	40,7	360
11	11,3	9,74	46,9	200
12	8,45	7,4	35,3	400
13	8,37	7,13	32,4	150
14	11,00	8,87	41,8	330
15	8,98	7,81	37,9	280
16	9,22	8,35	39,1	360
17	10,5	9,53	41,1	290
18	9,29	8,69	40,3	385

Tabelle 71: Weißes Blutbild der Katzen vor Versuchsbeginn

Katzen-Nummer	Leukozyten (x10 ⁹ /l)	Neutrophile Granulozyten (x10 ⁹ /l)	Lymphozyten (x10 ⁹ /l)	Monozyten (x10 ⁹ /l)	Eosinophile Granulozyten (x10 ⁹ /l)	Basophile Granulozyten (x10 ⁹ /l)
1	12,5	7,75	2,7	0,7	0,3	0,10
2	8,37	4,7	3,9	0,8	0,6	0,00
3	7,13	3,56	2,68	0,49	0,427	0,00
4	9,27	4,54	3,5	0,7	0,37	0,09
5	7,16	3,436	2,86	0,5	0,2	0,00
6	4,78	2,246	1,003	0,621	0,908	0,00
7	10,3	5,78	3,09	0,927	0,412	0,01
8	13,2	8,976	2,244	1,18	0,792	0,00
9	9,51	4,56	3,613	0,856	0,475	0,00
10	16,9	10,816	4,394	1,014	0,507	0,02
11	11,6	9,04	1,74	0,696	0,116	0,00
12	14,9	7,003	6,705	0,569	0,569	0,00
13	15	11,1	2,4	1,005	0,6	0,00
14	8,5	2,97	3,825	0,85	0,765	0,00
15	6,92	4,013	6,22	6,92	1,591	0,00
16	15,1	4,22	7,7	0,75	2,416	0,00
17	7,82	4,848	1,564	0,547	0,86	0,00
18	9,74	5,256	2,337	0,876	1,265	0,00

9.2 Serumwerte der Katzen vor Versuchsbeginn

Tabelle 72: Harnstoff, Kreatinin und Leberenzyme (AST, ALT, GLDH) der Katzen vor Versuchsbeginn

Katzen- Nummer	Harnstoff (mmol/l)	Kreatinin (mmol/l)	AST (IU/l)	ALT (IU/l)	GLDH (IU/l)
1	8,63	116	14	56	2,3
2	9,27	116	17	53	2,1
3	7,48	101	18	59	2,1
4	9,17	118	20	52	2,4
5	8,26	158	8	34	1,0
6	9,87	145	10	26	2,3
7	6,51	115	12	27	1,0
8	7,48	112	17	21	1,3
9	7,21	134	20	26	3,1
10	8,81	134	14	69	2,8
11	8,55	147	10	36	2,7
12	7,58	118	8	22	0,9
13	6,33	108	16	29	2,1
14	7,31	128	15	43	1,4
15	7,43	101	15	71	0,9
16	9,95	128	15	25	0,9
17	7,01	96	13	30	0,9
18	9,1	119	14	32	1,0

AST: Aspartat-Amino-Transferase

ALT: Alanin-Amino-Transferase

GLDH: Glutamat-Dehydrogenase

9.3 Maulhöhlenflora von 10 Katzen zum Zeitpunkt Tag 0 des Versuches 1 (Grundstaterhebung)

Tabelle 73: Zusammensetzung der Maulhöhlenflora an Tag 0 des Versuches I (Grundstatus) von den Katzen Nr. 1 und 2

Aerobier	Katze 1 Grundstatus
Kokken grampositiv	
Stäbchen grampositiv	Arcanobacterium haemolytica Brevibacterium sp. Corynebacterium sp. Corynebacterium accolens Corynebacterium propinquum Corynebacterium ulcerans
Kokken gramnegativ	Lautropia sp.
Stäbchen gramnegativ	Moraxella sp. Pasteurella sp. Weeksella virosa
Anaerobier	Katze 1 Grundstatus
Kokken grampositiv	
Stäbchen grampositiv	
Kokken gramnegativ	
Stäbchen gramnegativ	Campylobacter gracilis Porphyromonas asaccharolytica Prevotella melaninogenica/oralis Wolinella sp

Aerobier	Katze 2 Grundstatus
Kokken grampositiv	Staphylococcus haemolyticus Staphylococcus simulans
Stäbchen grampositiv	Arthrobacter sp.
Kokken gramnegativ	Neisseria dentiae
Stäbchen gramnegativ	Brevundimonas vesicularis Moraxella sp. Moraxella catarrhalis Pasteurella sp. Pasteurella multocida
Anaerobier	Katze 2 Grundstatus
Kokken grampositiv	
Stäbchen grampositiv	Lactobacillus acidophilus Propionibacterium sp.
Kokken gramnegativ	
Stäbchen gramnegativ	Bilophilia wadsworthia Fusobacterium necrophorum Porphyromonas asaccharolytica Prevotella melaninogenica/oralis

Tabelle 74: Zusammensetzung der Maulhöhlenflora an Tag 0 des Versuches I (Grundstatus) von den Katzen Nr. 3 und 4

Aerobier	Katze 3 Grundstatus
Kokken grampositiv	Staphylococcus aureus Streptococcus bovis I
Stäbchen grampositiv	Brevibacterium sp. Corynebacterium sp. Listeria grayi Rothia dentocariosa
Kokken gramnegativ	
Stäbchen gramnegativ	Actinobacillus lignersii Brevundimonas vesicularis Moraxella sp. Pasteurella ap. Pasteurella multocida Sphingomonas paucimobilis
Anaerobier	Katze 3 Grundstatus
Kokken grampositiv	
Stäbchen grampositiv	Eubacterium lentum
Kokken gramnegativ	
Stäbchen gramnegativ	Campylobacter gracilis Prevotella bivia

Aerobier	Katze 4 Grundstatus
Kokken grampositiv	Aerococcus viridans Staphylococcus sp. Staphylococcus aureus Staphylococcus haemolyticus Staphylococcus simulans Staphylococcus warneri Streptococcus suis I vergrünende Streptokokken
Stäbchen grampositiv	Brevibacterium sp. Corynebacterium sp.
Kokken gramnegativ	
Stäbchen gramnegativ	Burkholderia cepacia Pasteurella multocida Pseudomonas fluorescens
Anaerobier	Katze 4 Grundstatus
Kokken grampositiv	Streptococcus intermedius
Stäbchen grampositiv	Bifidobacterium sp.
Kokken gramnegativ	
Stäbchen gramnegativ	Bacteroides capillosus Bacteroides fragilis-Gruppe

Tabelle 75: Zusammensetzung der Maulhöhlenflora an Tag 0 des Versuches I (Grundstatus) von den Katzen Nr. 5 und 6

Aerobier	Katze 5 Grundstatus	Aerobier	Katze 6 Grundstatus
Kokken grampositiv	Kocuria rosea Micrococcus lylae Staphylococcus haemolyticus	Kokken grampositiv	Staphylococcus simulans
Stäbchen grampositiv	Cellulomonas sp. Corynebacterium sp. Corynebacterium accolens	Stäbchen grampositiv	Brevibacterium sp. Corynebacterium sp. Rothia dentocariosa
Kokken gramnegativ		Kokken gramnegativ	
Stäbchen gramnegativ		Stäbchen gramnegativ	Acinetobacter lwoffii Moraxella sp. Pasteurella multocida
Anaerobier	Katze 5 Grundstatus	Anaerobier	Katze 6 Grundstatus
Kokken grampositiv		Kokken grampositiv	
Stäbchen grampositiv	Propionibacterium sp.	Stäbchen grampositiv	
Kokken gramnegativ		Kokken gramnegativ	
Stäbchen gramnegativ	Bacteroides fragilis-Gruppe Campylobacter gracilis Fusobacterium sp.	Stäbchen gramnegativ	Fusobacterium mortiferum Porphyromonas asaccharolytica

Tabelle 76: Zusammensetzung der Maulhöhlenflora an Tag 0 des Versuches I (Grundstatus) von den Katzen Nr. 7 und 8

Aerobier	Katze 7 Grundstatus
Kokken grampositiv	Aerococcus viridans Gemella morbillorum Staphylococcus chromogenes Staphylococcus hominis Staphylococcus warneri Streptococcus bovis I
Stäbchen grampositiv	Corynebacterium sp. Corynebacterium propinquum Listeria sp.
Kokken gramnegativ	
Stäbchen gramnegativ	Moraxella sp. Pasteurella sp. Pseudomonas stutzeri Sphingomonas paucimobilis
Anaerobier	Katze 7 Grundstatus
Kokken grampositiv	
Stäbchen grampositiv	Eubacterium lentum Propionibacterium acnes Propionibacterium propionicum
Kokken gramnegativ	
Stäbchen gramnegativ	Bacteroides uniformis Porphyromonas asaccharolytica Prevotella sp. Prevotella buccae/oris Prevotella melaninogenica/oralis Wolinella sp

Aerobier	Katze 8 Grundstatus
Kokken grampositiv	Staphylococcus sp. Streptococcus bovis I Streptococcus bovis II
Stäbchen grampositiv	Cellulomonas sp. Corynebacterium sp. Rothia dentocariosa Streptomyces sp.
Kokken gramnegativ	Neisseria cinera
Stäbchen gramnegativ	Haemophilus aphrophilus Pasteurella sp. Sphingomonas paucimobilis
Anaerobier	Katze 8 Grundstatus
Kokken grampositiv	
Stäbchen grampositiv	Bifidobacterium sp. Lactobacillus acidophilus Propionibacterium acnes Propionibacterium propionicum
Kokken gramnegativ	
Stäbchen gramnegativ	Prevotella buccae/oris Prevotella melaninogenica/oralis

Tabelle 77: Zusammensetzung der Maulhöhlenflora an Tag 0 des Versuches I (Grundstatus) von den Katzen Nr. 11 und 12

Aerobier	Katze 11 Grundstatus	Aerobier	Katze 12 Grundstatus
Kokken grampositiv	Staphylococcus epidermidis Staphylococcus hominis Streptococcus suis	Kokken grampositiv	Kocuria rosea Micrococcus lylae Micrococcus sp. Staphylococcus sp. Staphylococcus chromogenes Staphylococcus epidermidis
Stäbchen grampositiv	Bacillus sp. Cellulomonas sp. Corynebacterium bovis Corynebacterium sp.	Stäbchen grampositiv	Brevibacterium sp. Cellulomonas sp.
Kokken gramnegativ		Kokken gramnegativ	Neisseria cinera
Stäbchen gramnegativ	Moraxella sp. Pasteurella sp.	Stäbchen gramnegativ	Moraxella sp. Pasteurella sp.
Anaerobier	Katze 11 Grundstatus	Anaerobier	Katze 12 Grundstatus
Kokken grampositiv		Kokken grampositiv	
Stäbchen grampositiv	Eubacterium lentum Propionibacterium acnes Propionibacterium sp.	Stäbchen grampositiv	Clostridium perfringens Eubacterium lentum Propionibacterium acnes Propionibacterium propionicum
Kokken gramnegativ		Kokken gramnegativ	
Stäbchen gramnegativ	Fusobacterium sp. Prevotella melaninogenica/oralis	Stäbchen gramnegativ	Prevotella melaninogenica/oralis

10 Danksagung

Meinem Doktorvater Herr Prof. Dr. W. A. Rambeck danke ich für die Überlassung des Themas und die tolle Betreuung während der Arbeit.

Bei Dr. Ulrich Wehr, meinem Betreuer, bedanke ich mich ganz herzlich für die immer gerne geleistete Unterstützung bei meinen vielen Fragen.

Meiner Mitdotorandin Katrin Elsbett danke ich für ihre Unterstützung bei der Versuchsdurchführung, insbesondere im bakteriologischen Labor, ihre guten Ideen und ihre Freundschaft.

Des Weiteren möchte ich Nicole Seiler und Dr. Julia Schwarzer für ihre Hilfe bei der TEAC-Bestimmung und Sophie Strodbeck für ihre Hilfe bei den Blutentnahmen danken.

Vielen Dank auch an Frau Wetzels, Frau Kleiner und Herrn Hesselbach und für ihre Mühen bei den Laborarbeiten, die trotz des Umzugs noch rechtzeitig fertig geworden sind.

Ein großes Dankeschön geht auch an das Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit nach Oberschleißheim, insbesondere an Frau Dr. Dagmar Kahlau, die bereit war, uns bei der bakteriologischen Arbeit zur Seite zu stehen und sich damit deutlich mehr Arbeit gemacht hat als vorgesehen war. Vielen Dank auch an Hannelore Gliedl, Jasmin Fräßdorf und Wolfgang Schmidt für die guten Ideen und die stets freundliche Beantwortung unserer Fragen.

Den Mitarbeitern der Außenstelle Oberwiesenfeld, insbesondere Frau Dr. Britta Dobenecker, Herrn Frille, Frau Al-Tokmaschi und Frau Reder danke ich für ihre Unterstützung bei der praktischen Durchführung der Fütterungsstudie und ihre guten Tipps. Frau Stadler danke ich besonders für die Hilfe bei der Durchführung der Weender Analysen.

Frau Prof. Dr. Katrin Hartmann danke ich für die Möglichkeit, die Laboreinrichtungen der 1.MTK benutzen zu dürfen.

Aus dem Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung am Klinikum Rechts der Isar danke ich ganz herzlich Herrn Prof. Dr. Wolf Erhard, Frau Dr. Julia Henke und Frau

Johanna Ebner, sowie allen netten Helfern, die für uns die Anästhesie der Katzen übernommen haben und dadurch einen reibungslosen Ablauf der Versuchstage ermöglichten.

Für die Hilfe bei der statistischen Auswertung möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. K. Osterkorn, Herrn J. Stanglmeier und meinem Betreuer Dr. U. Wehr bedanken.

Marc Völlm danke ich für seine Unterstützung in allen Phasen der Doktorarbeit und seinen Optimismus, ihm und Jan Liebscher bin ich auch sehr dankbar für die schnelle Hilfe bei allen Computerproblemen.

Ein großes Dankeschön geht auch an meine Eltern, die mir stets mit Rat und Tat beiseite standen und immer ein offenes Ohr für meine Probleme hatten.

Der Studienstiftung des Deutschen Volkes danke ich für die großzügige finanzielle Unterstützung, die mir eine rasche Bearbeitung des Themas möglich gemacht hat.

11 Lebenslauf

Sonja Gorissen

- 16.01.1976 Geboren in Stuttgart als Tochter von Irene Gorissen,
geb. Hausser und Wolfhelm Gorissen
- 1982-1986 Besuch der Grundschule in Hemmingen
- 1986-1995 Besuch des Hans-Grüninger-Gymnasiums in Markgröningen
- 27.06.1995 Allgemeine Hochschulreife
- 1996-2002 Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-
Universität München
- 05.08.2002 III. Staatsexamen
- 05.09.2002 Approbation als Tierärztin
- Oktober 2002 Beginn der Arbeiten an der vorliegenden Dissertation