

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Eignung des Antiseptikums Polyhexanid im in-vitro Biofilm-Modell
zur Bekämpfung pathogener Erreger der Mundhöhle



Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Dr. med. Konrad Theodor August Tolksdorf
aus Burgwedel GT Großburgwedel

2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatterin: Prof. Dr. med. dent. Karin Christine Huth, MME

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Andreas Wieser
Prof. Dr. Jan-Frederik Güth
Prof Dr. Andrea Wichelhaus

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. dent. Maximilian Kollmuß

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 13.08.2021

Inhalt

1.	Einleitung	1
1.1	Die mikrobielle Mundhöhlenflora	1
1.2	Epidemiologie und Ätiologie der Parodontitis	4
1.3	Epidemiologie und Ätiologie der Karies	8
1.4	Epidemiologie und Ätiologie der oralen Wundheilungsstörung	10
1.5	Mundspül- und Desinfektionslösungen in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde	11
1.5.1	Chlorhexidin	14
1.5.2	Ätherische Öle	16
1.5.3	Polyhexanid	17
2.	Fragestellung und Zielsetzung	20
3.	Material und Methoden	21
3.1	Bakterien-/ Pilzstämmе	21
3.2	Nährmedien	21
3.3	Mundspüllösungen	22
3.4	Anzucht	23
3.5	Einwirken der Desinfektionsmittel	24
3.6	Blutkontamination	26
3.7	Wiederholung der Versuche	27
3.8	Statistische Methoden	28
4.	Ergebnisse	29
4.1	Statistischer Überblick	29
4.2	Unterschiede zu isotoner Kochsalzlösung	30
4.3	Unterschied zwischen CHX 0,2% und CHX 0,1%	31
4.4	Unterschied zwischen ProntOral und Polihexanid 0,15%	32
4.5	Unterschiede polihexanidhaltiger Lösungen zu Listerine und Chlorhexidin 0,2%	34
4.6	Blutkontamination und Wirksamkeit der Desinfektionslösungen	36
5.	Diskussion	39
6.	Zusammenfassung	47
7.	Literatur	48
8.	Anhang	62
8.1	Abkürzungsverzeichnis	63
8.2	Tabellenverzeichnis	64
8.3	Abbildungsverzeichnis	65
8.4	Verzeichnis der verwendeten Geräte	66
8.5	Verzeichnis der Verbrauchsmaterialien	66
8.6	Zusammensetzung verwendeter Nährmedien und Chemikalien	67
9.	Danksagung	70
10.	Lebenslauf	71

1. Einleitung

Bereits im 12. Jahrhundert empfahl HILDEGARD VON BINGEN in ihrem Werk "Causae et curae" prophylaktisches Mundspülen, um die Zähne und das Zahnfleisch gesund zu erhalten:

„Der Mensch muß immer wieder die Zähne zwischendurch durch Spülen mit Wasser reinigen; tut er dies nicht regelmäßig, dann entsteht als Folge mitunter im Fleisch um die Zähne ein Livor (=Zahnbelag) und vermehrt sich, so dass das Zahnfleisch krank wird. Auch entstehen aus dem Livor, der sich um die Zähne abgelagert hat, schon einmal Zahnwürmer, die ebenfalls das Zahnfleisch anschwellen lassen; so hat der Mensch seinen Zahnschmerz [1].“

Sollten die Zähne trotz dieser vorbeugenden Spülungen vom sog. Zahnwurm (gemeint war Karies) befallen sein, so riet HILDEGARD VON BINGEN, diesen mit Aloe und Myrrhe zu behandeln [1].

Ohne von Bakterien, der Ätiologie von Karies und Parodontitis oder den Zusammenhängen der Desinfektion zu wissen, beschrieb die Benediktiner-Äbtissin also bereits damals zutreffend ätherische Öle als effektive Therapiemittel, um Erkrankungen der Mundhöhle vorzubeugen. Neben solchen stehen heutzutage viele synthetische Wirkstoffe zur Verfügung. In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob sich eine Polyhexanidlösung in-vitro zur Bekämpfung einer pathologischen Mundflora im Vergleich zum etablierten Chlorhexidindiguconat eignet. Mögliche Einsatzgebiete wären hier die Therapie von Parodontitis, Karies und oraler Wundheilungsstörungen.

1.1 Die mikrobielle Mundhöhlenflora

Während der Geburt, spätestens kurz danach wird die Mundhöhle von verschiedensten Mikroorganismen besiedelt [2]. Bei Verdauung und Immunabwehr spielt diese physiologische mikrobielle Besiedelung der Mundhöhle eine wichtige Rolle. Mit Hilfe molekularbiologischer Methoden konnten hier bisher über 700 unterschiedliche Mikroorganismen nachgewiesen werden. Die physiologische Mundflora umfasst neben Bakterien auch Pilze und Protozoen [3].

Die spezifische Zusammensetzung der Mundflora ist interindividuell unterschiedlich und verändert sich mit dem Alter der Patienten. Passend zu den altersgerechten Gegebenheiten in der Mundhöhle verändern sich die prozentualen Anteile an anaeroben Mikroorganismen. Vor der ersten Dentition sind kaum Anaerobier anzutreffen. Erst mit Durchbruch der Zähne und damit dem Entstehen von Schlupfwinkeln wie Sulci und Approximalräumen setzen sich anaerobe Erreger in der Mundhöhle fest [4, 5]. Im höheren Alter finden sich dann mit abnehmender Zahl an Zähnen immer weniger solcher Mikroorganismen, dafür vermehrt Hefen (z.B. *Candida albicans*) und andere Pilze, deren Ansiedlung durch das Tragen von Prothesen begünstigt werden [6].

Grundsätzlich muss bei Bakterien in der Mundhöhle zwischen planktonoiden, also sich frei im Speichel bewegenden, und ortsgebundenen, in Biofilmen organisierten Mikroorganismen, unterschieden werden. Während die planktonoiden Bakterien durch einfache Verdünnung bzw. Durchfluss entfernt werden können, widerstehen in Biofilmen organisierte Bakterien solchen Angriffen [7].

Um in der Mundhöhle verbleiben zu können, haben Bakterien ein gewisses Adhäsionsvermögen entwickelt. So können sich Bakterien nicht nur aneinander binden, sondern sich auch mit Hilfe von Adhäsinen an Epithelzellen der Schleimhaut oder die Schmelzoberhäutchen bzw. Zahnhartsubstanzen ihres Wirts heften [8]. Eine derartige Symbiose von Mikroorganismen als Aggregation vieler verschiedener Bakterien werden Biofilm genannt. Auf Zahnoberflächen wird dieser Biofilm auch als Plaque bezeichnet (s. Abbildung 1)

Biofilme bieten den beteiligten Bakterien neben den spezifischen Adhäsionsmechanismen viele weitere Vorteile. So kommt es zum Beispiel zum Austausch von Stoffwechselprodukten, zur Signaltransduktion und zu gesteigerter Widerstandskraft gegen wirtseigene oder iatrogene antibakterielle Angriffe. Als Biofilm organisiert, entstehen gegen diese Angriffe unterschiedliche, zusätzliche Abwehrmechanismen, wie zum Beispiel Sekretion schützender Muzine, Immunglobulin und Komplement abbauende Proteasen und gegen Antibiotika gerichtete extrazelluläre Enzyme [7].



Abbildung 1: Dentaler Biofilm

(Foto freundlicherweise von Dr. M. Kollmuß, Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, LMU München zur Verfügung gestellt)

Ein weiterer Vorteil ist, dass sich nach bereits 24 Stunden nach Beginn der Biofilmbildung ein anaerobes Milieu innerhalb der Plaque entwickelt, das es auch Anaerobiern ermöglicht, sich anzusiedeln [9]. Persistiert die Plaque über einen längeren Zeitraum, entsteht durch Mineralisierung der extrazellulären Matrix und auch der Bakterien selbst Zahnstein [10].

Eine Erregerbelastung für den gesamten Organismus bei zahnärztlichen Eingriffen beschrieben OKELL und Mitarbeiter erstmals 1935, als sie das Auftreten oraler Mikroorganismen nach zahnärztlichen Eingriffen im Blut des Patienten (sogenannte Bakteriämie) nachwiesen. Mittlerweile liegen Studien zur Bakteriämie-Inzidenz zu einzelnen spezifischen Eingriffen, wie Extraktionen (100% [11]), Sondieren von Zahnfleischtaschen im Rahmen des Erheben eines Parodontalstatus (20% [12]) und subgingivalem Scaling (46% [13]) vor. Alle Studien zeigten außerdem, dass die Bakteriämien in der Regel nicht länger als 15 min nach dem Eingriff anhalten. Bei prädispositionierten Patienten kann eine derartige iatrogen hervorgerufene Bakteriämie eine infektiöse Endokarditis auslösen [14]. Zu derartigen Patienten gehören Menschen mit angeborenem oder erworbenem Herzfehler, Mitralklappenprolaps mit Mitralinsuffizienzgeräusch ohne ausgeprägter myxomatöser Degeneration, mit

hypertroph obstruktiver Kardiomyopathie. Ein besonders hohes Endokarditisrisiko haben die Patienten mit Herzklappenersatz mittels mechanischer oder biologischer Prothese, im Zustand nach mikrobiell verursachter Endokarditis oder mit angeborenem (komplexem) Herzfehler mit Zyanose [15].

Aus diesem Grund hat die Europäische Gesellschaft für Kardiologie eine Leitlinie herausgegeben, um derartige Patienten zu erkennen und prophylaktisch mit Antibiotika zu behandeln. Hier wird betont, dass hygienische periinterventionelle Bedingungen den Grundpfeiler einer jeden Endokarditisprophylaxe darstellen [15]. Solche Bedingungen können beispielsweise durch orale Desinfektionsmittel gefördert werden.

1.2 Epidemiologie und Ätiologie der Parodontitis

Neben diesen Risiken sind bakterielle Biofilme Hauptauslöser verschiedener Krankheitsbilder.

Unter Parodontitis werden verschiedene entzündliche parodontale Erkrankungen, also Erkrankungen des Zahnhalteapparats, zusammengefasst. Diese können nach der 2018 neu gestalteten Klassifikation der American Academy of Periodontology und der European Federation of Periodontology, wie in Abbildung 2 dargestellt, eingeteilt werden [16].

Die World Health Organisation (WHO) gibt eine weltweite Parodontitisprävalenz von 15-20% an [17].

Die durch Bakterien hervorgerufene Erkrankung wird durch lokale und systemische Risikofaktoren beeinflusst. Zu den lokalen Faktoren gehört vor allem die mangelnde Mundhygiene und anatomische Gegebenheiten [18, 19]. Als systemische Faktoren sind Begleiterkrankungen wie Diabetes [20–22], arterielle Hypertonie [23], Malnutrition [24] und Nikotinabusus [25, 26] anzusehen.

Parodontale Gesundheit, gingivale Erkrankung			Parodontitis		
Parodontale und gingivale Gesundheit	Gingivitis		Nekrotisierende Parodontalerkrankungen	Parodontitis	Parodontitis als Manifestation einer systemischen Erkrankung
	Durch dentalen Biofilm induziert	Nicht durch dentalen Biofilm induziert			

Andere das Parodontium betreffende Zustände				
Systemische Erkrankungen, die das Parodontium beeinflussen	Parodontalabszesse und Endo-Paro-Läsionen	Mukogingivale Deformitäten und Zustände	Traumatische okklusale Kräfte	Zahn und Zahnersatz bezogenen Faktoren

Periimplantäre Erkrankungen und Zustände			
Periimplantäre Gesundheit	Periimplantäre Mukositis	Periimplantitis	Periimplantäre Weich- und Hartgewebsdefekte

Abbildung 2: Einteilung der Erkrankungen des Zahnhalteapparats

Einteilung nach der American Academy of Periodontology und der European Federation of Periodontology [16]

LÖE und Mitarbeiter konnten 1965 histologisch nachweisen, dass die Plaquentstehung nach Absetzen jeglicher Mundhygienemaßnahmen zu einer Gingivitis führt [19]. Es kommt zu einer Gewebeschädigung sowohl durch den Biofilm selbst als auch durch die Entzündungsreaktion des Wirts. Erst wenn die Entzündung den Zahnhalteapparat erreicht, spricht man von einer Parodontitis. Durch immunologische Vorgänge samt Resorption kommt es zu Alveolarknochen- und Parodontalligamentverlust, was unter dem Begriff Attachmentverlust zusammengefasst werden kann. Dieser Befestigungsverlust führt zur Lockerung und schließlich zum Verlust der betroffenen Zähne [27].

Die Schwere der Erkrankung ist dabei nicht von der bloßen Menge des Biofilms abhängig, vielmehr bestimmen das Vorhandensein und die Konzentration bestimmter Bakterien den Krankheitsverlauf. Die Arbeitsgruppe um S. SOCRANSKY prägte in diesem Zusammenhang Ende der 1990er Jahre den Begriff der Mikrobiellen Komplexe in subgingivaler Plaque [28, 29]. Hier werden begrifflich mehrere Bakterienspezies, die miteinander interagieren, zu Gruppen, sog. Komplexen, zusammengefasst (s. Abbildung 3). Den einzelnen Gruppen wird eine bestimmte Rolle im Parodontitisverlauf zugesprochen. So stellen die Mitglieder des violetten, gelben und

grünen Komplexes sog. Frühkolonialisierer dar (u.a. Streptokokken-, Actinomyces- und Campylobacterspezies). Für sich gesehen sind diese Spezies wenig pathogen. Durch ihre Fähigkeit, einen adhäsiven Verbund in Zahnfleischtaschen und mit der Zahnoberfläche einzugehen, ebnen sie jedoch den Weg für andere Bakterien, indem sie ein Fundament für den Biofilm bilden [30]. Eine gesonderte Stellung nimmt hier das Bakterium *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ein. Es wird dem grünen Komplex zugeordnet. Obwohl es zu den früh ansiedelnden Keimen innerhalb einer Plaque gehört, werden einige Serotypen als hoch pathogen eingestuft [31–33]. Diese Bakterien produzieren nämlich protolytische Enzyme und können deshalb die epitheliale Barriere der Schleimhaut überwinden. Ist diese Grenze von den Bakterien überschritten, entziehen sie sich aller wirtseigenen Abwehrmechanismen und iatrogenen Therapien von außerhalb der Mukosa.

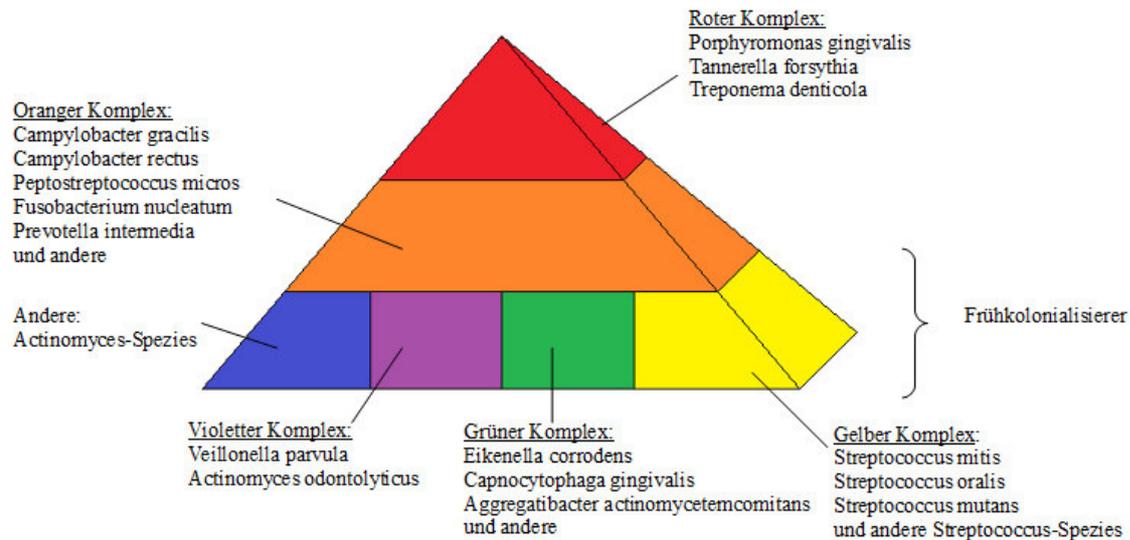


Abbildung 3: Komplexpyramide nach Socransky

modifiziert nach Socransky und Mitarbeiter [29]

Auf Grundlage der Frühkolonialisierer können dann Erreger des orangenen Komplexes den Biofilmverbund besiedeln. Hier sind als mäßig bis stark pathogen eingestufte Keime zusammengefasst, die für ein sauerstoffarmes Milieu innerhalb des Biofilms sorgen (u.a. Fusobakterium- und Prevotellaspezies). Dadurch ebnen sie den Weg für die Ansiedlung der ebenfalls obligat anaeroben Erreger des roten Komplexes. Während sich in den zuvor besprochenen Komplexen sowohl grampositive wie gramnegative Bakterien finden lassen, besteht der rote Komplex nur aus gramnegativen Bakterien.

Den Vertretern dieser Gruppe (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* und *Treponema denticola*) wird die höchste Pathogenität im Rahmen der Parodontitis zugesprochen. Sie produzieren zahlreiche Hämagglutinine, Phosphatasen und Kollagenasen, die zum Abbau des Halteapparats beitragen [34]. Ähnlich wie *A. actinomycetemcomitans*, sind die Bakterien des roten Komplexes in der Lage, die epitheliale Barriere zu durchdringen. *P. gingivalis* kann sogar innerhalb von Wirtszellen überleben [35]. Durch diese Fähigkeit erschweren sie mechanische Therapiearten wie Scaling und Rootplaning [36].

Als Folge der Destruktion des parodontalen Halteapparats entstehen Zahnfleischtaschen, die wiederum als durch normale Mundhygiene schlecht erreichbare Nischen, die Plaqueentstehung und damit ein Fortschreiten der Parodontitis begünstigen.

Bei bis zu 90% der Patienten mit vor allem sehr aggressiver Ausprägung der Parodontitis lässt sich der gram-negative, fakultativ anaerobe Erreger *A. actinomycetemcomitans* nachweisen [37]. Von R. KLINGER 1912 erstmals als Actinomyces-Bakterium beschrieben [38], wurde das Bakterium immer wieder neu klassifiziert und wird heute der Gattung der Aggregatibacter zugerechnet. Extraoral konnte *A. actinomycetemcomitans* vor allem bei bakteriellen Endokarditiden nachgewiesen werden [39].

Ein weiterer gut untersuchter Erreger parodontaler Erkrankungen ist *Fusobacterium nucleatum*. Es ist ein gram-negatives Stäbchen und besitzt einen obligat anaeroben Stoffwechsel. *F. nucleatum* wird als Vermittlerbakterium zwischen Frühkolonialisierern der oralen Plaque und den pathogenen Erregern des roten Komplexes angesehen – auch Spätkolonisierer genannt [28, 40]. Das Bakterium gilt als einer der typischen oralen Erreger, die im gesamten restlichen Organismus Infektionen und Erkrankungen hervorrufen können. Zu diesen Erkrankungen gehören unter anderen die Chorioamnionitis [41], die Appendizitis [42] und die Postangina-Septikämie [43]. *F. nucleatum* zählt zusätzlich als Risikofaktor für colorektale Karzinome [44–46].

Die Anwesenheit von *F. nucleatum* im oralen Biofilm bewirkt eine manifoldige Reaktion des Wirtskörpers. Unter anderem werden Defensine (v.a. h β D-2 und -3) und verschiedene Zytokine (v.a. IL-8, CXCL-1) sowie andere Immunbotenstoffe (v.a. GM-CSF, G-CSF) hochreguliert [47]. Während diese Reaktion eher protektiv erscheint,

wurde eine *F. nucleatum*-assoziierte Apoptose von Lymphozyten und Monozyten beschrieben [48]. Wichtiger für die Pathogenese der parodontalen Erkrankungen erscheint jedoch, dass die parodontal aggressiven Erreger *P. gingivalis*, *P. intermedia* und *T. forsythia* fast immer nur in Anwesenheit von *F. nucleatum* gefunden werden [28, 49]. Es handelt sich somit scheinbar um einen Wegbereiter für die eigentlichen Erreger der Parodontitis.

1.3 Ätiologie und Epidemiologie der Karies

Die WHO schätzt, dass weltweit 60-90% der Kinder und fast 100% der Erwachsenen Karies haben bzw. hatten [50]. Diese Feststellung ist in ihrer Generalität wenig aussagekräftig, da unterschiedliche Ausprägungsformen und regionale Unterschiede außer Acht gelassen werden, zeigt aber eindeutig den Charakter der Volkskrankheit.

Das Institut der Deutschen Zahnärzte (IDZ) erstellt regelmäßig im Auftrag der Bundeszahnärztekammer (BZÄK) und der Kassenzahnärztlichen Bundesvereinigung (KZBV) die Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS). Hierbei wird unter anderem auch die Verbreitung von Karies in Deutschland mithilfe des DMFT-Index gemessen, der sowohl bereits behandelte als auch aktuell bestehende Karies umfasst. Hierbei werden die kariösen (decayed), aufgrund von Karies fehlenden (missing) und gefüllten Zähne (filled teeth) gezählt. In der fünften Studie von 2016 konnte gezeigt werden, dass der seit der ersten Studie von 1989 bestehende Trend zu immer geringerer Karieserfahrung in Deutschland trotz Erhöhung des Durchschnittsalters fortbesteht. Zur Zeit weisen danach durchschnittlich 11,2 Zähne eines 35-45 Jährigen eine Karieserfahrung auf [51]. In der Literatur sind viele Risikofaktoren für Karies beschrieben. Die zwei Hauptfaktoren sind dabei kariogene Bakterien und Hyposalivation [52].

Karies stellt einen chronischen, destruktiven Demineralisationsprozess der Zahnhartsubstanzen infolge eines pH-Abfalls innerhalb der bakteriellen Zahnplaque dar [53]. ORLAND und Mitarbeiter konnten 1954 beweisen, dass für die Kariesentstehung das Vorhandensein von Bakterien obligat ist [54]. Der Verlauf der Erkrankung wird ähnlich dem der Parodontitis, durch in Zahnplaque organisierte, spezifische Erreger, wie z.B. Streptokokken-, Laktobazillus- und Aktinomycesspezies, geprägt. Wie zuvor beschrieben, stehen die an einem Biofilm beteiligten Bakterien in enger Interaktion. W.

MILLER beschrieb bereits 1889 in seinem Postulat "*keine Caries ohne Säure*" das heute anerkannte Faktum, dass Karies durch säurebedingte Demineralisation der Zahnhartsubstanzen entsteht [55]. Während bei Parodontitis die sich in Zahnfleischtaschen ansiedelnden obligaten Anaerobier im Vordergrund stehen, sind säureproduzierende fakultative Anaerobier die hauptverantwortlichen Bakterien bei der Kariesentstehung. Diese decken ihren Energiebedarf durch Spaltung von Zuckern. Dabei entsteht neben anderen organischen Säuren vor allem Milchsäure (Laktat). Wird hierdurch die kritische Schwelle von pH 5,5 unterschritten, lösen sich Ca^{2+} Ionen aus dem Hydroxylapatit, dem Hauptbestandteil der Zahnhartsubstanzen [56]. Überwiegt diese Demineralisierung die Remineralisierung, entsteht eine Kariesläsion. Nahrung mit vielen unterschiedlichen Zuckertypen hat dabei das höchste kariogene Potential, da hierdurch Substrat für viele verschiedene azidogene Bakterien geliefert wird [57].

Streptococcus mutans wird in der Literatur immer wieder als führendes kariesverursachendes Bakterium genannt [58]. Dieser von KILIAN CLARKE 1924 erstmals beschriebene, fakultativ anaerobe, grampositive Erreger findet sich hauptsächlich in der menschlichen Mundhöhle [59]. Neben der Bedeutung bei der Kariesentstehung ist *S. mutans* ein Erreger der bakteriellen Endokarditis lenta [60]. Über die oben beschriebenen Milchsäureproduktion hinaus ist *S. mutans* in der Lage, sich mittels glukavermittelter Adhärenz an die Zahnhartsubstanzen zu heften [61]. Es widersteht dem selbst verursachten pH-Wertabfall durch ATP-abhängigen Protonenexport [62].

Vor allem bei der Wurzelkaries wird vermehrt *Actinomyces naeslundii* nachgewiesen [63, 64]. Mit den Fimbrien, die diese Bakterien ausbilden, können sie sowohl untereinander in direkten Kontakt treten (Co-Adhäsion), als auch an Oberflächen effektiv binden. Wegen dieser Eigenschaft wird *A. naeslundii* in der Literatur auch als sogenanntes Pionierbakterium der Karies beschrieben [65–68]. Durch die Fähigkeit sich an Oberflächen zu heften, unterstützt *A. naeslundii* auch Biofilme, die für die Parodontitis und für orale Wundheilungsstörungen verantwortlich sind.

1.4 Epidemiologie und Ätiologie der oralen Wundheilungsstörung

Wundheilung kann grundsätzlich in drei Abschnitte – Hämostase, Inflammation, Proliferation – unterteilt werden [69]. Wird eine dieser Phasen gestört, kommt es zur Verlangsamung oder zum Stillstand des Heilungsprozesses. Durch eine bakterielle Infektion kann beispielsweise die inflammatorische Heilungsphase verlängert und die Proliferation hinausgezögert werden. Die verursachenden Bakterien organisieren sich häufig in Biofilmen und entziehen sich so teilweise der antimikrobiellen Wirkung von Antibiotika [70].

Als Beispiel für chronische, intraorale Wundheilungsstörung sei hier die Bisphosphonat-assoziierte Osteonekrose des Kiefers (bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw, BRONJ) genannt. Häufig kann im vorhandenen Biofilm unter anderen *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces naeslundii* und *Candida albicans* isoliert werden [71].

Das grampositive, fakultativ anaerobe Bakterium *S. aureus* besiedelt asymptomatisch viele Bereiche des menschlichen Körpers. Es besitzt jedoch mehrere Pathogenitätsfaktoren, die bei reduzierter Immunantwort durch den Wirt zu Krankheitssymptomen führen können. Durch eine Polysaccharidkapsel und Protein A schützt sich das Bakterium gegen Phagozytose, mit Hilfe von Koagulase und Clumping-Faktor A gegen Antikörperopsonierung. *S. aureus* kann unterschiedliche Toxine, wie z.B. Enterotoxine, Exfoliatine und Toxic-Shock-Syndrom-Toxin, sezernieren [72]. Unter der Abkürzung *MRSA* fasst man heutzutage *S. aureus*-Stämme zusammen, die gegen alle β -Laktamantibiotika Multi-Resistenzen entwickelt haben (früher Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*). Es wurden auch Resistenzen gegen Antibiotika anderer Wirkgruppen beschrieben [73]. *MRSA* stellt vor allem im Rahmen nosokomialer Infektionen ein Problem in der heutigen Krankenhaushygiene dar. Die mukokutane Desinfektion spielt hier bei steigenden Resistenzen gegen Antibiotika eine entscheidende Rolle. Derzeit wird für die Mundschleimhautdesinfektion gegen *MRSA* CHX empfohlen [74–76].

Actinomyces-Spezies spielen, wie oben beschrieben, als Frühkolonialisierer in der Pathogenese der Parodontitis und eine Rolle. Auch in kariösen Kavitäten und bei der BRONJ findet man regelmäßig z.B. *A. naeslundii*. Dieser grampositive, mikroaerophile

Erreger induziert die wirtseigene Zytokinproduktion und die Proliferation von Osteoklasten [77].

ZHANG und Mitarbeiter konnten in ihrer Studie zeigen, dass Titan, wie es z.B. in der Implantatologie verwendet wird, in Anwesenheit von *A. naeslundii* schneller korrodiert [78].

Bei Patienten mit Karies, Parodontitis und Wundheilungsstörungen finden sich im Biofilm nicht nur Bakterien, sondern auch Pilze. So ist *Candida albicans* ein kommensaler Hefepilz, der verschiedene Interaktionen mit intraoralen Bakterien unterhält. Es konnte nachgewiesen werden, dass *S. mutans* schneller einen Biofilm ausbildet, wenn auch *C. albicans* vorhanden ist und die extrazelluläre Biofilmmatrix mit β -Glukanen verstärkt. Im Tiermodell konnte dabei ein schnellerer und ausgedehnterer Kariesprogress beobachtet werden [79, 80].

1.5 Mundspül- und Desinfektionslösungen in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde

Studien konnten zeigen, dass eine ausreichende Plaquekontrolle durch alleiniges, mechanisches Zähneputzen bei den meisten Patienten nicht erreicht wird. Unterstützend müssen antimikrobielle Substanzen über Zahnpasten und/oder Mundspüllösungen angewendet werden [81–83]. Die jeweilige Wirkung kann in bakteriostatische, das heißt die Vermehrung der Bakterien hemmende und bakterizide, also Bakterien abtötende Wirkung unterteilt werden. Die minimal bakteriostatische Konzentration (minimal inhibitory concentration, MIC) eines Stoffes gibt dabei an, ab welcher Konzentration gelöste Bakterien sich nicht mehr vermehren. Ab der minimalen bakteriziden Konzentration (minimal bactericidal concentration MBC) lassen sich die Bakterien auch nach Entfernen des Stoffes nicht mehr anzüchten [84].

In der Literatur finden sich viele Studien dazu, dass sich Mundspüllösungen vor allem als Ergänzung zum Zähneputzen eignen. Insbesondere profitieren Patienten mit speziellen Bedürfnissen, wie z.B. sich in kieferorthopädischer (s. Abbildung 4) [85], geriatrischer [86, 87] und in intensivmedizinischer Behandlung befindliche Patienten [88].



Abbildung 4: Multibandapparatur und Biofilm bei einem Patienten in kieferorthopädischer Behandlung

(Foto freundlicherweise von Dr. C.-L. Hennig, Poliklinik für Kieferorthopädie, FSU Jena zur Verfügung gestellt)

Eine Mundspüllösung sollte nicht nur planktonische Bakterien, sondern auch die als Biofilm adhärenen Erreger bekämpfen. Dabei ist das Ziel über die Schädigung der bereits kolonialisierten Bakterien hinaus, auch die Anlagerung an sich zu verhindern. Dieser Antiplaque-Effekt wird vor allem Chlorhexidin und Octenidin zugesprochen [89–91]. Dies können die Desinfektionsmittel nur leisten, wenn sie eine gewisse Substantivität, also die Fähigkeit sich an Oberflächen haften zu bleiben, besitzen.

Der Leitlinienentwurf "Indikationen und Wirkstoffauswahl zur prophylaktischen und therapeutischen Mundhöhlenantiseptik" der Deutschen Gesellschaft für Krankenhaushygiene unterteilt den Einsatz von intraoralen Desinfektionsmitteln in ungezielte Spülung der gesamten Mundhöhle und lokalisierte Anwendung, z.B. im Rahmen von Wurzelkanalspülungen [92]. Die hier empfohlenen Indikationen sind in der Tabelle 1 dargestellt.

Interessanterweise liegen für die intraorale Desinfektion vor zahnärztlichen und oralchirurgischen Eingriffen nur hinweisende klinische Studien (Empfehlungskategorie II) oder keine ausreichenden Studien (Empfehlungskategorie III) vor. Dies steht im Gegensatz zur Hautantiseptik, bei der in der entsprechenden Leitlinie eine Empfehlung auf gut konzipierten systematischen Reviews ausgesprochen

wird (Empfehlungskategorie IA) [93].

Für einen Vorteil einer generellen oralen Desinfektion vor zahnärztlichen Eingriffen gibt es keine Evidenz.

	Indikation	Empfehlungskategorie
Zahnärztliche Indikationen	vor Zahnextraktion	II
	Zur Endokarditisprophylaxe	II
	Vor elektiven oralchirurgischen Eingriffen, professionellen Zahnreinigungen, Sanierung kariöser Läsionen	II
	Vor, ggf nach längeren operativen Eingriffen in der Mundhöhle	III
	Für einen begrenzten Zeitraum bei Unfähigkeit zur regulären mechanischen Zahnreinigung durch Immobilisation des Kiefers, im hohen Alter, bei mentalen Erkrankungen	II
	Bei deutlich erhöhtem Kariesrisiko, das durch konventionelle Kariesprophylaxe nicht beherrschbar ist	IB
	Vor zahnärztlicher Behandlung	III
	Zur Wurzelkanalantiseptik	II
	Schleimhautantiseptik vor Injektion	III
Indikationen anderer Fachrichtungen	Im Verlauf einer Chemotherapie als Ergänzung zur mechanischen Plaquekontrolle	III
	Zur Reduktion des Mukositis-Risikos bei Bestrahlungspatienten	II
	Bei Beatmungspatienten	II

Tabelle 1: Indikationen zur prophylaktischen und therapeutischen Mundhöhlenantiseptik der DGKH

nach Pitten und Mitarbeiter [92]

DGKH = Deutsche Gesellschaft für Krankenhaushygiene, IB: Nachdrückliche Empfehlungsbasiert auf experimentellen, klinischen oder epidemiologischen Studien, II: Empfehlung basiert auf hinweisenden klinischen oder epidemiologischen Studien und schlüssiger theoretischer Begründung , III: derzeit nicht gesicherte Maßnahme, ungelöstes Problem oder unzureichende Evidenz

1.5.1 Chlorhexidin

Das Antiseptikum Chlorhexidin (CHX) wird in medizinischer Anwendung als Chlorhexidinbis(D-gluconat) verwendet, da es in dieser Form wasserlöslich ist.

Die Summenformel lautet $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$ und das Molekulargewicht beträgt somit 505,45 g/mol (s. Abbildung 5) [94].

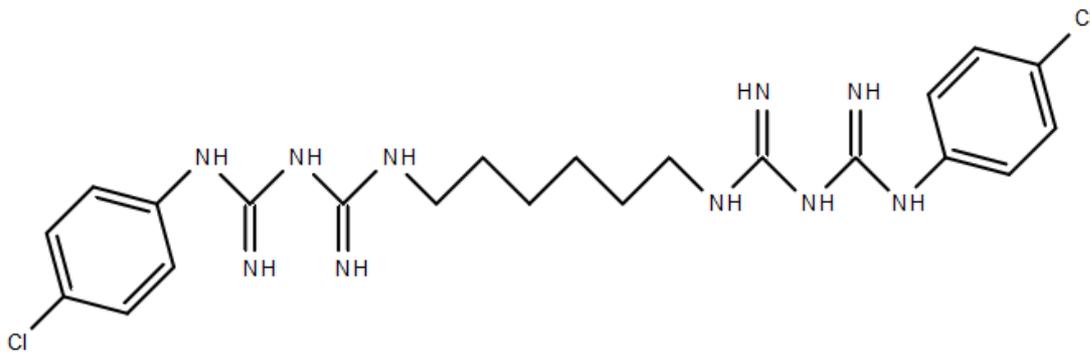


Abbildung 5: Strukturformel Chlorhexidin

modifiziert nach: PubChem, Open Chemistry Database [94]

Die Wirkung von CHX ist konzentrationsabhängig [95]. Das positiv geladene CHX-Molekül bindet sich bereits bei niedrigen Konzentrationen (0,02-0,06%) an die negativ geladene innere Zellmembran der Bakterien und führt dadurch zu einer Erhöhung der Permeabilität. Dieser Vorgang ist reversibel und wirkt somit nur bakteristatisch [95]. Durch die Membranbeeinflussung ist CHX bedingt auch gegen Pilze und behüllte Viren wirksam [90]. Höher konzentriert (>0,12%) bewirkt CHX über die Membranpermeabilitätserhöhung hinaus ein Ausfällen phosphorylierter Zytoplasmabestandteile wie Adenosintriphosphat und Nucleinsäuren. Dieser Vorgang ist nicht reversibel und führt zum Zelltod des betroffenen Bakteriums [90]. Die minimale bakterizide Konzentration liegt je nach Bakterienspezies zwischen 1,6 und 3,2 mmol/l [89].

CHX bindet an die meisten Oberflächen der Mundhöhle, wie Mukosa und Zahnhartsubstanzen, und auch im Speichel. Dadurch entsteht eine Art Reservoir, sodass

auch zwei Stunden nach Mundspülung noch eine antibakterielle Wirkung in der Mundhöhle nachgewiesen werden konnte [96]. Dieser Effekt wird mit dem Begriff Substantivität beschrieben.

Da es sich bei CHX um ein Kation handelt, wird es von anionischen Tensiden gebunden und dadurch inaktiviert. Ein Beispiel ist das in vielen Zahnpasten enthaltene Natriumlaurylsulfat. Aus diesem Grund wird zu einem Zeitintervall von mindestens 30 Minuten zwischen Zähneputzen und Mundspülung geraten [97–99].

Zu einer Inhibition der antimikrobiellen Wirkung kommt es ebenfalls durch Kontakt mit Blut. Serumalbumin ist amphiphil und kann somit das kationische CHX binden. Dies kann zu völligem Wirkverlust bei gering konzentrierten Lösungen führen [100, 101].

Unerwünschte Arzneimittelreaktionen treten proportional mit der Anwendungsintensität auf. Vor allem bei mehrfach täglicher Mundspülung über einen Zeitraum länger als sieben Tage beschreibt die Literatur Verfärbungen der Zunge (Haarzunge) und der Zähne inklusive eventuell vorhandener Restaurationen (s. Abbildung 6) [102, 103].



Abbildung 6: Verfärbungen, die durch Chlorhexidin verursacht wurden

(Foto freundlicherweise von Dr. M. Kollmuß, Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, LMU München zur Verfügung gestellt)

Desweiteren berichten die Patienten über Schleimhautirritationen und Schmeckveränderungen [104]. Außerdem beschrieben verschiedene Studien die verstärkte und beschleunigte Mineralisierung dentalen Biofilms (Zahnsteinbildung)

nach Gebrauch von CHX [105, 106]. Auch allergische Reaktionen bis hin zur Anaphylaxie sind beschrieben [107, 108].

Bei der Beantwortung der Frage, ob CHX die intraorale Wundheilung beeinflusst, ist sich die Literatur uneinig. Es finden sich gleichermaßen Veröffentlichungen, die die Wundheilung unter CHX-Therapie als verbessert ansehen [109–111], die keinen Unterschied feststellen [112] und die von schlechterer Wundheilung unter CHX-Therapie berichten [113, 114].

Gleichwohl stellt CHX den Goldstandard in der gezielten intraoralen antibakteriellen Therapie mittels Mundspüllösung dar [90].

Auf dem deutschen Markt sind Mundspüllösungen mit Chlorhexidin unter den Markennamen Chlorhexamed, Cidegol C, Dynexan Proaktiv, meridol med CHX 0,2%, Paroex und Perio AID erhältlich.

Es werden unterschiedliche Konzentrationen zu unterschiedlichen Indikationen geführt. In 0,2%iger Lösung ist Chlorhexidin frei verkäuflich und hat gute Wirksamkeit gegen orale Erreger gezeigt [115].

1.5.2 Ätherische Öle

JOSEPH LAWRENCE entwickelte 1879 eine Mundspüllösung namens Listerine. Dieser Name war eine Anlehnung an den britischen Chirurgen und Vorreiter in der chirurgischen Antisepsis Sir Joseph Lister [116]. Heutzutage wird Listerine von Johnson & Johnson, New Brunswick, NJ, USA vertrieben. Die antimikrobielle Grundrezeptur ist bis heute in etwa die gleiche geblieben. Als Wirkstoffe werden Menthol 0,042%, Thymol 0,064%, Methylsalicylat 0,06% und Eukalyptol 0,092% angegeben. Als Lösungsvermittler ist Ethanol 21,6% enthalten.

Die Wirksamkeit in der Bekämpfung von intraoralen Erregern, Plaqueakkumulation, Gingivitis und von Halitosis ist in vielen Studien belegt [117–120]. Die Potenz wird dabei von den meisten Autoren als gut, aber unterhalb von CHX 0,2% beschrieben [119–121].

Neben einer antibakteriellen und antifungiziden Wirkung konnten CROUGHAN und Mitarbeiter eine antivirale Wirkung von Listerine bei Herpes simplex I und II

nachweisen [122].

Als unerwünschte Arzneimittelreaktionen sind Schleimhautirritationen [123] und Fallberichte von Kontaktallergien [124] beschrieben.

1.5.3 Polyhexanid

Die Wiederholeinheit von Polyhexanid (Polyhexamethylenbiguanid, PHMB) hat die Summenformel $C_8H_{17}N_5$, eine molare Masse von 183,25 g/mol und gehört zur chemischen Gruppe der Bispyridine (s. Abbildung 7) [125].

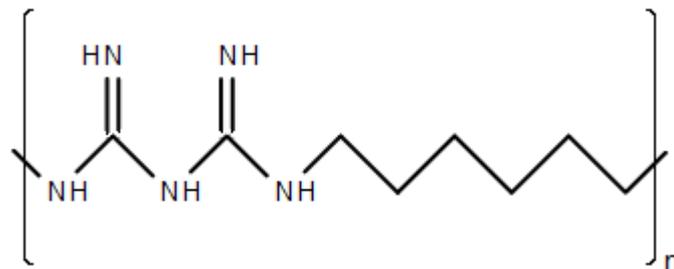


Abbildung 7: Strukturformel Polyhexanid

modifiziert nach: PubChem, Open Chemistry Database [125]

Die Anzahl der Wiederholeinheiten des Polymers beeinflusst die Eigenschaften dieses Desinfektionsmittels. Je länger die Molekülkette, desto besser ist die Zelladsorption. Gleichzeitig sinkt mit der steigenden molekularen Masse die Diffusionsfähigkeit [126]. Es zerstört die Zellwandintegrität der Bakterien, indem es nach Aufnahme in die Bakterienzelle die Phospholipide der äußeren Membran umordnet. Hierdurch kommt es zu einer Oberflächenvergrößerung und Anhebung der Permeabilität [127]. Dieser Mechanismus wird durch die amphiphile Eigenschaft des Polymers ermöglicht. Durch den vermehrten transmembranen Kaliumstrom stellt sich erst die Bakteriostase, später, nach Verlust der gesamten Zellmembranfunktion, der Zelltod ein [128]. Untersuchungen durch ZHOU und Mitarbeiter lassen vermuten, dass Polyhexanid über diese Membranwirkung hinaus auch Plasmaproteine und die bakterielle DNA direkt beeinflusst [129].

PHMB wirkt sowohl gegen gramnegative wie -positive Bakterien, Multiresistente Erreger, Protozoen und Pilze [130]. Es besitzt keine viruziden oder sporoziden Wirkeigenschaften [131].

Durch den im Vergleich zu eukaryoten Zellen prozentual viel höheren Anteil von anionischen Phospholipiden an der prokaryoten Zellmembran sind Bakterien weitaus anfälliger gegen die Wirkung des PHMB als die menschlichen Zellen [126, 127].

LD50 beschreibt in der Toxikologie die mittlere Dosis einer Substanz, die bei der beschriebenen Spezies letal wirkt. Der Wert LD50 (Ratte) für Polihexanid liegt bei >2000mg/kg. KRAMER und Mitarbeiter berechneten aus der LD50 (Ratte) und der minimalen bakteriziden Konzentration für *P. aeruginosa* in Analogie zur therapeutischen Breite von Medikamenten eine selektive Toxizität von 200,3. Im Vergleich hierzu lag dieser Wert für CHX bei 0,9 [132]. Diese Ergebnisse zeigten, dass es sich bei Polihexanid um einen sehr sicheren Wirkstoff handelt [131].

Problematisch scheint allein der Kontakt zu Knorpelgewebe. RÖHNER und Mitarbeiter zeigten in in-vitro Versuchen, dass Einwirkzeiten von einer bis zehn Minuten von Polihexanid 0,04% teilweise die Apoptose von Chondroblasten induzierten [133, 134]. Um einen derartigen Untergang der Knorpelzellen zu verhindern raten die Autoren bei Kontakt von Knorpel mit Polihexanid zu nachfolgenden Spülungen mit isotoner Kochsalzlösung [135]. Beim intraoralen Einsatz sind chondrale Strukturen jedoch weit entfernt, sodass diese Gefahr hier zu vernachlässigen ist.

Bisher wurde noch von keinerlei Resistenzentwicklungen gegen PHMB - weder klinisch noch in-vitro – berichtet [130].

PHMB wird in der Medizin, neben Nutzung als Konservierungsmittel von z.B. Kontaktlinsen [136], vor allem in der Wundantiseptik verwendet [137]. Des weiteren sind erfolgreiche Behandlungskonzepte von Osteomyelitis mit Polihexanid beschrieben [138, 139]. In der orthopädischen Implantatprothetik wird der Wirkstoff bereits seit vielen Jahren erfolgreich eingesetzt [140]. Die Konsensusempfehlung zur Auswahl von Wirkstoffen für die Wundantiseptik gibt PHMB als Mittel der ersten Wahl bei chronischen und empfindlichen Wunden an und spricht ihm wundheilungsfördernde Wirkung zu [131].

Der Hersteller des in Deutschland für den oralen Gebrauch zugelassenen ProntOral® (PHMB-Konzentration von 0,15%) gibt neben allergischen Reaktionen keinerlei

unerwünschte Arzneimittelwirkungen an [141]. In ihrer Vergleichsstudie zu allergisierenden Eigenschaften von Desinfektionsmitteln beschrieben LACHAPELLE und Mitarbeiter allergische Kontaktdermatitis nach CHX 0,2% als häufig, bei Polihexanid hingegen als selten. Für die Häufigkeiten von Urtikaria und anaphylaktischen Reaktionen geben die Autoren für beide Wirkstoffe vereinzelte beschriebene Fälle an [142].

2. Fragestellung und Zielsetzung

Seit Jahrzehnten stellt CHX die Mundspüllösung der ersten Wahl zur Bekämpfung pathogener Erreger in der Mundhöhle dar. Neben der nachweislich sehr guten antimikrobiellen Aktivität zeigt CHX jedoch verschiedene unerwünschte Arzneimittelwirkungen, wie z.B. Verfärbungen, möglicherweise Wundheilungsstörungen, Schleimhaut- und Schmeckirritationen [107, 108]. Obwohl sich PHMB in den letzten Jahren vor allem in der Orthopädie und Unfallchirurgie als Desinfektionsmittel durchgesetzt hat, gibt es keine Studien zu dessen Einsatz in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde.

Das Ziel dieser Arbeit war, PHMB auf die antimikrobielle Wirksamkeit gegen spezifische pathogene Bakterien der Mundhöhle in einem Hydroxylapatit-Biofilm-Modell in-vitro zu testen, um die mikrobiologische Grundlage für eine eventuelle klinische Studie zur Eignung PHMBs in der Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde zu schaffen.

Daher sollte in dieser Arbeit folgende Hypothese geprüft werden:

"Der Wirkstoff Polyhexanid eignet sich im in-vitro Plaque-Modell zur Bekämpfung pathogener Erreger der Mundhöhle."

Um die Wirksamkeit vergleichen zu können, sollten die etablierten oralen Desinfektionsmittel Chlorhexidin und Listerine auf die gleiche Art und Weise geprüft werden. Durch das Testen von Chlorhexidin 0,2% und 0,1% sollte ein genauerer Vergleich mit dem etablierten Wirkstoff ermöglicht werden und gleichzeitig der Frage nach der Möglichkeit einer Konzentrationsreduktion beim etablierten Chlorhexidin nachgegangen werden.

In der Einsatzrealität oraler Desinfektionsmittel ist häufig auch Blut anwesend. Da ein Kontakt mit Blut viele Antiseptika negativ beeinflusst, sollte in dieser Arbeit auch die Wirksamkeit der untersuchten Desinfektionsmittel unter Blutkontamination untersucht werden.

3. Material und Methoden

3.1 Bakterien-/ Pilzstämme

Alle in dieser Arbeit verwendeten Erreger wurden von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) in Braunschweig im gefriergetrockneten Zustand bezogen (ehemals Deutsche Sammlung von Mikroorganismen). In Tabelle 2 sind sowohl die Sammlungsnummern der American Type Culture Collection als auch der DSMZ angegeben.

	ATCC- Nummer	DSM-Nummer
<i>C. albicans</i>	MYA-273	-
<i>S. mutans</i>	25175	20523
<i>A. naelundii</i>	12104	43013
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	11123	43718
<i>MRSA</i>	-	11822
<i>F. nucleatum</i>	25586	15643

Tabelle 2: Sammlungsnummern der verwendeten Mikroorganismen

ATCC = American Type Culture Collection; DSM = Deutsche Sammlung von Mikroorganismen

Die Reaktivierung der gefriergetrockneten Erregerkulturen - also das Auftauen, die Rehydrierung und die Anzucht – erfolgte nach der mitgelieferten Anleitung. Diese ist auch auf der Internetpräsenz der DSMZ hinterlegt [143].

Für die Stammhaltung wurde das dem Erreger entsprechende flüssige Nährmedium um einen zehnpromzentigen Glyceringehalt erweitert. Mit einer Impföse gewonnene Kolonien wurden in dieses Medium übertragen. Die entstandene Suspension wurde anschließend mittels flüssigem Stickstoff bei -196 °C eingefroren und gelagert.

3.2 Nährmedien

Als geeignete feste Nährmedien wurden gebrauchsfertige Agar-Platten verwendet (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA). Für alle Erreger kam dabei Schaedler-Agar mit 5% Schafsblut, zum Einsatz.

Bei *C. albicans* wurde als flüssiges Nährmedium Difco™ YPD Broth (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA), bei *F. nucleatum* modifiziertes PYG-Medium verwendet. Als flüssiges Nährmedium für die restlichen Erreger wurde Bacto™ Brain Heart Infusion (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) benutzt. Die jeweiligen Rezepte sind dem Anhang zu entnehmen.

3.3 Mundspüllösungen

Einen Überblick über die untersuchten Desinfektionslösungen gibt Tabelle 3.

Für die Positivkontrolle war die gebrauchsfertige, 0,2% chlorhexidinhaltige Mundspüllösung Dynexidin® forte (Chemische Fabrik Kreussler & Co. GmbH, Wiesbaden, Deutschland) geeignet. Diese wurde unverdünnt und auf einen CHX-Gehalt von 0,1% verdünnt verwendet.

Als fertige Mundspüllösung mit Polihexanid wurde ProntOral® (B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) untersucht. Die Polihexanidkonzentration dieses Präparats beträgt 0,15%.

Um Beeinflussung der antimikrobiellen Wirksamkeit des Polihexanids durch die zusätzlichen Inhaltsstoffe ausschließen zu können, erfolgte die Herstellung einer 0,15%igen Lösung aus der Reinsubstanz (Polyhexanid-Lösung 20%, Calachem Fine Chemicals, Grangemouth, Schottland, Vereinigtes Königreich). Im folgenden wird diese Lösung mit PHMB bezeichnet.

Als Vergleichslösung wurde Listerine Cool Mint (Johnson & Johnson, New Brunswick, NJ, USA) verwendet.

Für die Negativkontrolle diente eine isotone Kochsalzlösung (Isotonische Kochsalzlösung 0,9, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland).

	Wirkstoff
CHX 0,2%	Chlorhexidindigluconat 0,2%
CHX 0,1%	Chlorhexidindigluconat 0,1%
Listerine Cool Mint	Menthol 0,042%, Thymol 0,064%, Methylsalicylat 0,06%, Eukalyptol 0,092%
ProntOral	Polihexamethylenbiguanid 0,15%
PHMB	Polihexamethylenbiguanid 0,15%
NaCl	Keiner (Natriumchlorid 0,9%)

Tabelle 3: Verwendete Desinfektionsmittel mit Wirkstoffen

3.4 Anzucht

Zur Gewährleistung eines optimalen Keimwachstums wurden alle untersuchten Erreger nach dem Auftauen auf Schaedler-Agar überimpft und für mindestens 48 Stunden kultiviert (vergleiche hierzu Abbildung 8)

Für die Anzucht eines Biofilms auf Hydroxylapatit-Plättchen (Clarkson Chromatography Products Inc., South Williamsport, PA, USA) wurden Kolonien der Erreger jeweils in geeignetem, flüssigem Nährmedium in Suspension gebracht. Die im Durchmesser 1,27 cm betragenden Hydroxylapatit-Plättchen wurden so geschnitten, dass sie aufrecht in den Schächten von 48er Mikrotitrierplatten (Cellstar® 48 Well, Greiner Bio One, Kremsmünster, Österreich) liegen konnten (siehe Abbildung 9). Mit 1 ml flüssigem Nährmedium und 100 µl Erreger-Suspension bedeckt, wurden die Hydroxylapatit-Plättchen anschließend für eine für den entsprechenden Erreger geeignete Zeit (siehe Tabelle 4) bei 36°C, 5,8% CO₂ und 60% Luftfeuchtigkeit inkubiert.

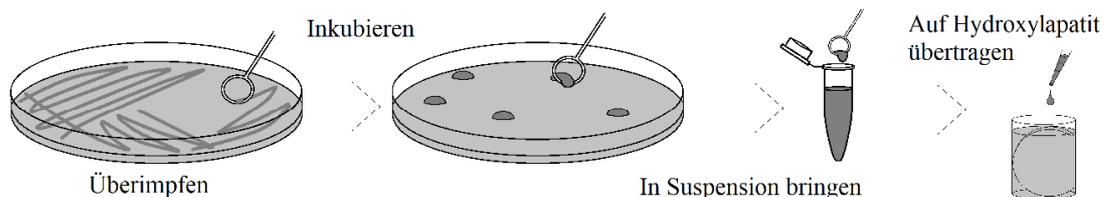


Abbildung 8: Anzucht der Erreger
(eigene Abbildung)

Da *F. nucleatum* ein obligat anaerobes Bakterium ist, wurden die gesamten Versuche mit diesem Bakterium unter einer Stickstoffatmosphäre innerhalb einer anaeroben

Werkbank (Shel Lab, Cornelius, OR, USA) durchgeführt. Das hier verwendete Gasmisch bestand aus 5% H₂, 10% CO₂ und 85% N₂ (Linde plc, München, Deutschland). Die Kultivierung dieser Versuche erfolgte im in dieser Werkbank integrierten Brutschrank unter gleichen Gasbedingungen bei 36°C.

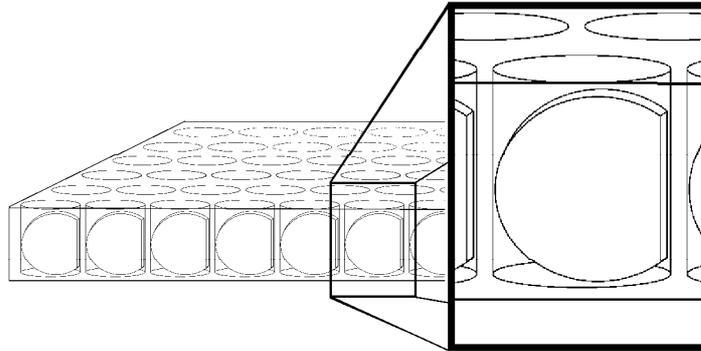


Abbildung 9: Hydroxylapatit-Plättchen in 48er-Mikrotiterplatte
(eigene Abbildung)

3.5 Einwirken der Desinfektionsmittel

Nach dem Inkubieren wurden die mit dem entsprechenden Biofilm überzogenen Hydroxylapatit-Plättchen in neue 48er Mikrotiterplatten überführt und nun mit jeweils 1 ml der zu untersuchenden Desinfektionslösung gänzlich bedeckt (siehe Abbildung 10).

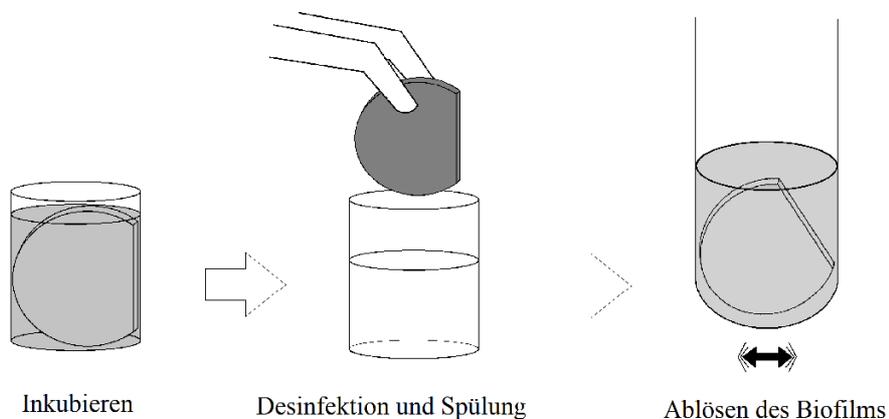


Abbildung 10: Desinfektion

(eigene Abbildung)

Die Einwirkzeiten betrug jeweils 30 Sekunden. Im Falle der Desinfektion von *MRSA* mit polihexanidhaltigen Lösungen wurden die Versuche zusätzlich mit einer Einwirkzeit von 60 Sekunden durchgeführt. War die entsprechende Zeit abgelaufen, musste die Desinfektionslösung entfernt und durch 1 ml sterile 0,9%ige NaCl-Lösung ersetzt werden. Mit diesem Schritt sollte die spülende Wirkung des Speichelflusses nach Ausspucken des Desinfektionsmittels simuliert werden. Nach einer Minute konnten dann die Plättchen jeweils in ein Reagenzglas überführt und erneut mit 1 ml steriler 0,9%iger NaCl-Lösung bedeckt werden. Dieser Abschnitt simulierte die Situation nach der Mundspülung, in der verbliebende Reste des jeweiligen Desinfektionsmittels weiter wirken können. Nach zehn Minuten wurden nun diese Reagenzgläser (Röhrchen, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Österreich) für 30 Sekunden auf dem, auf höchster Stufe eingestellten Laborschüttler (Vortex Mixer, neoLab Migge GmbH, Heidelberg, Deutschland) gerüttelt. Auf diese Weise konnte der auf den Plättchen befindliche Biofilm in Suspension gebracht werden.

Mit jeweils 100 µl des entstandenen NaCl-Erreger-Gemisches wurde dann in 1,5 ml-Mikroreaktionsgefäßen (Reagiergefäß 1,5 ml, Easy Cap, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) eine logarithmische, serielle Verdünnungsreihe mit sterilem Wasser (Aqua ad iniectabilia, Diaco Biofarmaceutici, Triest, Italien) in dem Verfahren hergestellt, das in Abbildung 11 zu sehen ist.

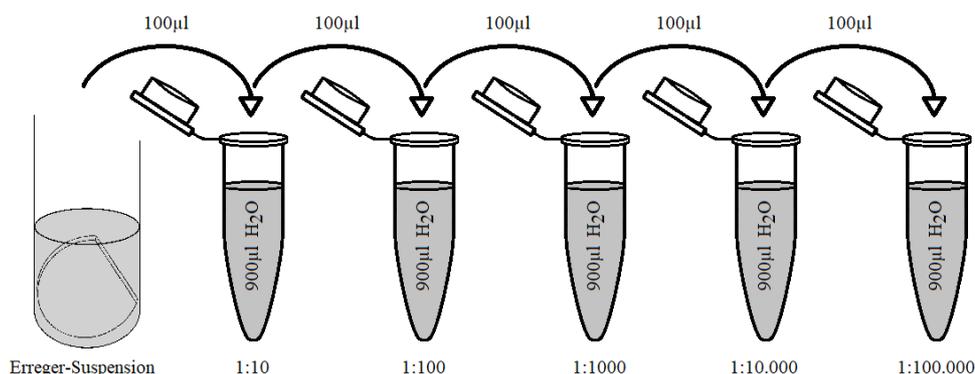


Abbildung 11: Verdünnungsreihe
(eigene Abbildung)

Von jeder Konzentration wurde schließlich 100 µl Suspension auf ein geeignetes, festes

Nährmedium (Schaedler-Agar) mit Hilfe eines Einweg-Plattierspatels (VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) und Drehtellers (petriturn-M, schuett-biotec GmbH, Göttingen, Deutschland) ausplattiert (s. Abbildung 12).

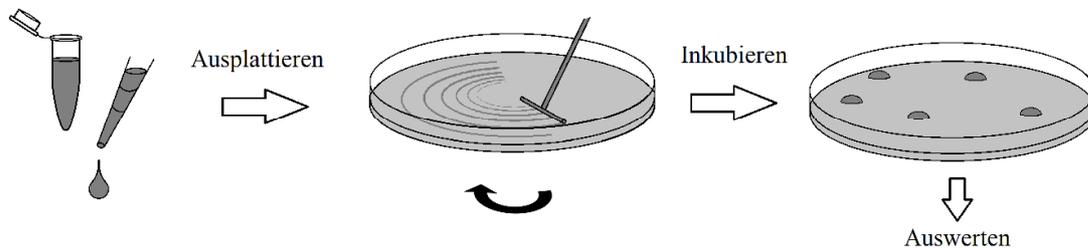


Abbildung 12: Ausplattieren

(eigene Abbildung)

Nach ausreichender Inkubation (s. Tabelle 4) bei 36°C, 5,8% CO₂ und 60% Luftfeuchtigkeit erfolgte die visuelle Auszählung der koloniebildenden Einheiten (KBE).

	Inkubationszeit Flüssigmedium	Inkubationszeit Schaedler-Agar
<i>C. albicans</i>	48h	48h
<i>S. mutans</i>	48h	48h
<i>A. naeslundii</i>	48h	48h
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	32h	32h
<i>MRSA</i>	32h	24h
<i>F. nucleatum</i>	96h	96h

Tabelle 4: Inkubationszeiten der untersuchten Erreger

3.6 Blutkontamination

Bei den eine Blutkontamination simulierenden Versuchen wurden die mit dem entsprechenden Biofilm bedeckten Hydroxylapatit-Plättchen, bevor sie in die neue 48er Mikrotiterplatte zur Desinfektion transferiert wurden, in defibriertes Schafsblood (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) getaucht. Dadurch entstand eine dünne Blutschicht auf dem Biofilm (vergleiche Abbildung 13). Die restlichen Schritte

erfolgten identisch wie zuvor beschrieben.

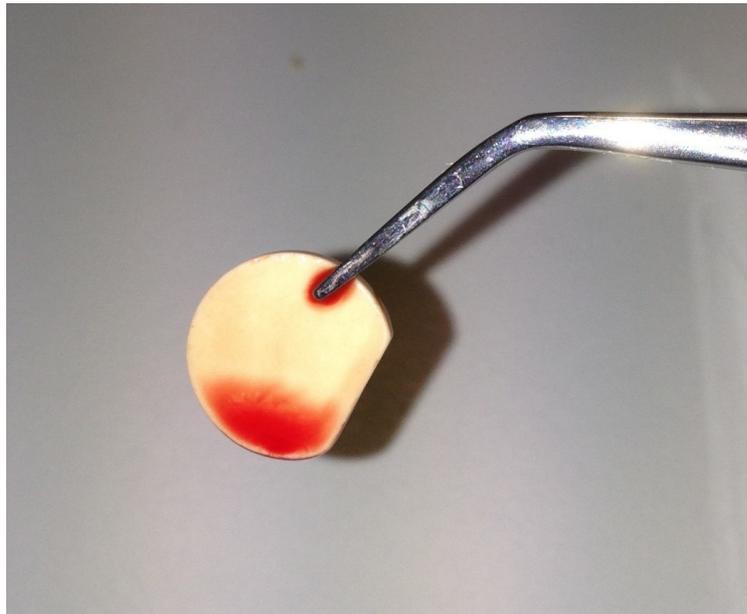


Abbildung 13: Hydroxylapatit-Plättchen nach dem Eintauchen in Schafsblut

(eigenes Foto)

3.7 Wiederholung der Versuche

Bei sechs untersuchten Erregern, sechs untersuchten Desinfektionslösungen (einschließlich der Negativprobe Kochsalzlösung) und der Untergliederung in Versuch mit und ohne Blutkontamination ergab sich eine Anzahl unterschiedlicher Versuche von 72. Da bei *MRSA* vom Hersteller von ProntOral eine verlängerte Einwirkzeit (60 Sekunden) vorgegeben wird, wurden hier die Versuche sowohl mit der Standardeinwirkzeit (30 Sekunden) als auch mit der verlängerten Einwirkzeit durchgeführt. Dadurch ergab sich eine finale Summe von 76 Versuchen.

Um statistisch valide Ergebnisse zu erhalten wurde für jeden Erreger und jedes Desinfektionsmittel wie in den vorangegangenen Kapiteln beschrieben der Versuch jeweils so lange wiederholt, bis mindestens 25 auswertbare Ergebnisse vorlagen. Als nicht auswertbar wurden dabei Versuche bewertet, wenn sich mehr als ein Achtel der Agar-Platte nach dem Inkubieren als verunreinigt zeigte.

3.8 Statistische Methoden

Die statistische Datenauswertung wurde mit dem Programm "SPSS Statistics" Version 25.0.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) durchgeführt.

Für die Irrtumswahrscheinlichkeit bei Ablehnung bzw. Annahme der gebildeten Nullhypothesen ist in dieser Arbeit ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ angenommen worden.

Bei mikrobiologischen Versuchen kommt es immer wieder zu Ergebnissen, die außerhalb der Erwartungen liegen. So zum Beispiel Agar-Platten, auf denen keine Kolonien gewachsen sind, obwohl mehrere hundert zu erwarten waren und anders herum. Solche Ausreißer können die Statistik verfälschen, weswegen sie vor Durchführung der Statistik erkannt und aus den Daten entfernt werden müssen. Die Ausreißer wurden nach z-Standardisierung als solche identifiziert, wenn ihr Wert höher als der eineinhalbfache Interquartilsabstand vom dritten Quartil bzw. niedriger als der eineinhalbfache Interquartilsabstand vom ersten Quartil lag [144].

Die Verteilung der Werte ist jeweils mit dem Shapiro-Wilk-Test überprüft worden [145]. Unterschiede zwischen Gruppen wurden mittels Kruskal-Willis-Test geprüft [146]. Die Signifikanzwerte wurden jeweils via Post-hoc-Test nach der Dunn-Bonferroni für mehrere Tests angepasst [146].

4. Ergebnisse

4.1 Statistischer Überblick

Wie im Kapitel "3. Material und Methoden" beschrieben, wurde jeder der 76 Versuche mindestens 25 mal durchgeführt. Dieses Vorgehen führte zu 1955 eingeschlossenen Versuchen. In jeder Untersuchungsreihe wurden die statistischen Ausreißer identifiziert und eliminiert, sodass sich schließlich Gruppengrößen zwischen 24 und 36 bei 72 ausgeschlossenen Experimenten ergaben. Diese Ausfallsquote von 3,08% signalisiert, dass es sich um verlässliche Ergebnisse handelt.

Die Untersuchung auf Normalverteilung zeigte, dass die Werte der insgesamt 76 Gruppen nur bei 17 Gruppen (22%) normalverteilt waren. Daher wurde sich für den nicht-parametrischen Kruskal-Wallis-Test zur Analyse von Unterschieden zwischen Gruppen entschlossen.

Die deskriptive Statistik der Versuche ergab folgendes, in Tabelle 5 dargestelltes Bild:

	n	KBE (Durchschnitt)	Standard- abweichung
<i>C. albicans</i>			
+ CHX 0,2%	24	2,70 x 10 ⁵	3,63 x 10 ⁵
+ CHX 0,1%	24	2,03 x 10 ⁵	2,95 x 10 ⁵
+ Listerine	25	8,75 x 10 ⁵	12,94 x 10 ⁵
+ ProntOral	25	3,94 x 10 ⁵	4,38 x 10 ⁵
+ PHMB 0,15%	24	1,11 x 10 ⁵	2,00 x 10 ⁵
+ NaCl	24	10,11 x 10 ⁵	13,99 x 10 ⁵
<i>S. mutans</i>			
+ CHX 0,2%	30	1,97 x 10 ⁴	1,69 x 10 ⁴
+ CHX 0,1%	27	4,24 x 10 ⁴	3,10 x 10 ⁴
+ Listerine	26	2,20 x 10 ⁴	1,84 x 10 ⁴
+ ProntOral	26	1,56 x 10 ⁴	1,94 x 10 ⁴
+ PHMB 0,15%	31	1,07 x 10 ⁴	0,73 x 10 ⁴
+ NaCl	23	72,97 x 10 ⁴	93,56 x 10 ⁴
<i>A. naeslundii</i>			
+ CHX 0,2%	25	5,62 x 10 ⁵	3,85 x 10 ⁵
+ CHX 0,1%	25	54,21 x 10 ⁵	35,65 x 10 ⁵
+ Listerine	23	4,20 x 10 ⁵	5,374 x 10 ⁵
+ ProntOral	25	8,47 x 10 ⁵	7,30 x 10 ⁵

	n	KBE (Durchschnitt)	Standard- abweichung
<i>C. albicans</i> + Blut			
+ CHX 0,2%	24	1,93 x 10 ⁶	1,48 x 10 ⁶
+ CHX 0,1%	24	1,63 x 10 ⁶	1,60 x 10 ⁶
+ Listerine	24	1,81 x 10 ⁶	0,98 x 10 ⁶
+ ProntOral	25	1,07 x 10 ⁶	0,77 x 10 ⁶
+ PHMB 0,15%	25	0,75 x 10 ⁶	0,86 x 10 ⁶
+ NaCl	25	3,51 x 10 ⁶	2,88 x 10 ⁶
<i>S. mutans</i> + Blut			
+ CHX 0,2%	27	1,58 x 10 ⁴	1,80 x 10 ⁴
+ CHX 0,1%	24	5,27 x 10 ⁴	4,14 x 10 ⁴
+ Listerine	25	3,09 x 10 ⁴	2,55 x 10 ⁴
+ ProntOral	27	3,00 x 10 ⁴	2,23 x 10 ⁴
+ PHMB 0,15%	24	1,95 x 10 ⁴	1,64 x 10 ⁴
+ NaCl	24	1,34 x 10 ⁶	2,07 x 10 ⁶
<i>A. naeslundii</i> + Blut			
+ CHX 0,2%	27	2,11 x 10 ⁶	2,35 x 10 ⁶
+ CHX 0,1%	25	5,16 x 10 ⁶	3,89 x 10 ⁶
+ Listerine	25	4,74 x 10 ⁶	2,90 x 10 ⁶
+ ProntOral	25	1,46 x 10 ⁵	1,67 x 10 ⁵

+ PHMB 0,15%	30	4,32 x 10 ⁵	3,54 x 10 ⁵	+ PHMB 0,15%	24	0,61 x 10 ⁵	0,93 x 10 ⁵
+ NaCl	33	23,22 x 10 ⁵	29,01 x 10 ⁵	+ NaCl	29	6,48 x 10 ⁶	4,31 x 10 ⁶
<i>A. a.</i>				<i>A. a. + Blut</i>			
+ CHX 0,2%	30	1,73 x 10 ²	2,13 x 10 ²	+ CHX 0,2%	26	1,03 x 10 ⁴	0,87 x 10 ⁴
+ CHX 0,1%	24	1,35 x 10 ⁴	1,47 x 10 ⁴	+ CHX 0,1%	27	6,9 x 10 ⁵	7,20 x 10 ⁵
+ Listerine	25	7,05x 10 ⁴	7,0381 x 10 ²	+ Listerine	25	1,51 x 10 ⁵	1,65 x 10 ⁴
+ ProntOral	24	1,68 x 10 ²	3,36 x 10 ²	+ ProntOral	32	1,63 x 10 ²	2,93 x 10 ²
+ PHMB 0,15%	26	11,13 x 10 ²	17,07 x 10 ²	+ PHMB 0,15%	24	1,15 x 10 ⁴	2,59 x 10 ⁴
+ NaCl	24	6,68 x 10 ⁵	11,19 x 10 ⁵	+ NaCl	25	9,93 x 10 ⁵	7,65 x 10 ⁵
<i>MRSA</i>				<i>MRSA + Blut</i>			
+ CHX 0,2%	25	2,50 x 10 ⁶	2,86 x 10 ⁶	+ CHX 0,2%	25	2,14 x 10 ⁶	1,25 x 10 ⁶
+ CHX 0,1%	26	4,75 x 10 ⁶	2,97 x 10 ⁶	+ CHX 0,1%	25	4,61 x 10 ⁶	4,24 x 10 ⁶
+ Listerine	25	2,41 x 10 ⁶	2,27 x 10 ⁶	+ Listerine	26	7,14 x 10 ⁶	5,62 x 10 ⁶
+ ProntOral	31	0,97 x 10 ⁶	2,55 x 10 ⁶	+ ProntOral	25	3,38 x 10 ⁵	4,45 x 10 ⁵
+ PHMB 0,15%	24	1,12 x 10 ⁶	1,54 x 10 ⁶	+ PHMB 0,15%	25	8,16 x 10 ⁵	14,41 x 10 ⁵
+ ProntOral 30s	27	2,19 x 10 ⁶	3,87 x 10 ⁶	+ ProntOral 30s	24	6,45 x 10 ⁵	7,51 x 10 ⁵
+ PHMB 0,15% 30s	25	4,55 x 10 ⁶	5,04 x 10 ²	+ PHMB 0,15% 30s	25	6,15 x 10 ⁶	9,42 x 10 ⁶
+ NaCl	28	6,17 x 10 ⁶	4,18 x 10 ⁶	+ NaCl	25	8,96 x 10 ⁶	3,48 x 10 ⁶
<i>F. nucleatum</i>				<i>F. nucleatum + Blut</i>			
+ CHX 0,2%	25	0,71 x 10 ²	1,18 x 10 ²	+ CHX 0,2%	24	2,30 x 10 ⁵	3,06 x 10 ⁵
+ CHX 0,1%	24	1,69 x 10 ⁴	4,92 x 10 ⁴	+ CHX 0,1%	24	1,53 x 10 ⁶	2,30 x 10 ⁶
+ Listerine	24	2,93 x 10 ³	13,44 x 10 ³	+ Listerine	25	7,36 x 10 ⁴	7,96 x 10 ⁴
+ ProntOral	30	0,23 x 10 ²	0,62 x 10 ²	+ ProntOral	24	1,15 x 10 ⁵	1,14 x 10 ⁵
+ PHMB 0,15%	24	0,60 x 10 ²	1,44 x 10 ²	+ PHMB 0,15%	24	1,73 x 10 ⁵	1,92 x 10 ⁵
+ NaCl	36	3,05 x 10 ⁴	5,62 x 10 ⁴	+ NaCl	25	4,81 x 10 ⁶	6,67 x 10 ⁶

Tabelle 5: Deskriptive Statistik

A.a. = Aggregatibacter actinomycetemcomitans, CHX = Chlorhexidin, PHMB = Polihexanid, KBE = Kolonienbildende Einheit

4.2 Unterschiede zu isotoner Kochsalzlösung

Nachdem einige der verwendeten Desinfektionsmittel in der Literatur beschriebene Wirksamkeit in der Bekämpfung von Mikroorganismen haben, ist davon auszugehen, dass sich die Anzahl der KBE nach Kontakt mit einem solchen geringer ist, als nach Kontakt mit einer isotonen Kochsalzlösung. Das Vorhandensein eines solchen Unterschieds zeigt, dass die Reduktion der KBE auf die verwendete Lösung zurückzuführen ist, da alle anderen Parameter der Versuche gleich sind.

Das Vorhandensein eines Unterschieds zu isotoner Kochsalzlösung wurde mittels Kruskal-Wallis-Test getestet und die Signifikanzwerte nach einem Dunn-Bonferroni-post-hoc-Test angepasst. Die Ergebnisse zeigten fast durchgängig signifikant niedrigere Anzahlen an KBE nach Desinfektion als nach Kontakt mit der isotonen Kochsalzlösung(s. Tabelle 14 im Anhang).

Anhand der gewonnenen Daten kann auch eine Reduktion der Anzahl an KBE im Vergleich ohne Desinfektion (also Kochsalzlösung) angegeben werden (s. Tabelle 6).

Ohne Blutkontamination						
	<i>C. albicans</i>	<i>S. mutans</i>	<i>A. naeshlundii</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>MRSA</i>	<i>F. nucleatum</i>
CHX 0,2%	73,3%	97,3%	75,8%	99,97%	59,4%	99,80%
CHX 0,1%	79,9%	94,2%	-57,2%	80,00%	23,1%	44,40%
Listerine	13,5%	97,0%	81,9%	89,50%	60,8%	90,40%
ProntOral	61,0%	97,9%	63,5%	99,98%	84,2% (64,5%)	99,92%
PHMB	89,0%	98,6%	81,4%	99,84%	82,0% (26,3)	99,81%

Mit Blutkontamination						
	<i>C. albicans</i>	<i>S. mutans</i>	<i>A. naeshlundii</i>	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	<i>MRSA</i>	<i>F. nucleatum</i>
CHX 0,2%	44,9%	98,8%	67,5%	99,0%	76,1%	95,3%
CHX 0,1%	53,5%	96,1%	20,5%	30,4%	48,5%	68,2%
Listerine	48,3%	97,7%	26,9%	84,8%	20,3%	98,5%
ProntOral	69,4%	97,8%	97,7%	99,9%	96,3% (92,8%)	97,5%
PHMB	78,5%	98,5%	99,1%	98,9%	90,9% (31,4%)	96,4%

Tabelle 6: Prozentuale Reduktion an koloniebildenden Einheiten im Vergleich zu isotoner Kochsalzlösung

CHX = Chlorhexidin, PHMB = Polihexanid, KBE = koloniebildende Einheit

In Klammern 30 Sekunden Einwirkzeit bei polihexanidhaltigen Lösungen bei *MRSA*.

4.3 Unterschied zwischen CHX 0,2% und CHX 0,1%

Um die Häufigkeit unerwünschter Arzneimittelwirkungen verringern zu können, versucht man eine möglichst geringe Konzentration des Desinfektionsmittles zu wählen. Um die in der Literatur empfohlene Konzentration von 0,2% bei Chlorhexidin zu

verifizieren, wurden alle Tests auch mit einer CHX-Konzentration von 0,1% durchgeführt und mittels Kruskal-Wallis-Test auf Unterschied getestet. Die Signifikanzwerte wurde entsprechend der Dunn-Bonferroni-Methode angepasst. Die Ergebnisse sind der Tabelle 7 zu entnehmen.

	p-Wert		p-Wert
<i>C. albicans</i>	0,799	<i>C. albicans</i> + Blut	0,526
<i>S. mutans</i>	0,006	<i>S. mutans</i> + Blut	0,000
<i>A. naeslundii</i>	0,000	<i>A. naeslundii</i> + Blut	0,005
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0,001	<i>A. actinomycetemcomitans</i> + Blut	0,000
<i>MRSA</i>	0,007	<i>MRSA</i> + Blut	0,076
<i>F. nucleatum</i>	0,005	<i>F. nucleatum</i> + Blut	0,447

Tabelle 7: Unterschiede zwischen Chlorhexidin 0,2% und Chlorhexidin 0,1%

Auf die gleiche Weise wurde verfahren, um die Desinfektion mit Chlorhexidin 0,1% mit der durch Listerine zu vergleichen. Die entsprechenden Ergebnisse sind in Tabelle 8 protokolliert.

	p-Wert		p-Wert
<i>C. albicans</i>	0,046	<i>C. albicans</i> + Blut	0,318
<i>S. mutans</i>	0,022	<i>S. mutans</i> + Blut	0,081
<i>A. naeslundii</i>	0,000	<i>A. naeslundii</i> + Blut	0,750
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0,074	<i>A. actinomycetemcomitans</i> + Blut	0,134
<i>MRSA</i>	0,017	<i>MRSA</i> + Blut	0,294
<i>F. nucleatum</i>	0,013	<i>F. nucleatum</i> + Blut	0,101

Tabelle 8: Unterschiede zwischen Chlorhexidin 0,1% und Listerine

4.4 Unterschied zwischen ProntOral und Polihexanid 0,15%

Um eine Wirkung zusätzlicher Inhaltsstoffe einer oralen Desinfektionslösung ausschließen zu können, wurde in dieser Arbeit jeder Versuch auch mit einer selbst hergestellten Polihexanidlösung durchgeführt. Diese enthielt außer der gleichen Konzentration an Polihexanid wie ProntOral keine anderen Inhaltsstoffe. Die

Unterschiede wurde mittels Kruskal-Wallis-Test ermittelt, sind der Tabelle 9 zu entnehmen und werden in Abbildung 14 dargestellt. Die angegebenen Signifikanzwerte wurden mittels Post-hoc-Test nach Dunn-Bonferroni angepasst.

	p-Wert		p-Wert
<i>C. albicans</i>	0,085	<i>C. albicans</i> + Blut	0,150
<i>S. mutans</i>	0,720	<i>S. mutans</i> + Blut	0,312
<i>A. naeslundii</i>	0,212	<i>A. naeslundii</i> + Blut	0,346
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0,135	<i>A. actinomycetemcomitans</i> + Blut	0,072
MRSA	0,231	MRSA + Blut	0,559
MRSA 30s	0,023	MRSA 30s + Blut	0,003
<i>F. nucleatum</i>	0,634	<i>F. nucleatum</i> + Blut	0,467

Tabelle 9: Unterschied zwischen ProntOral und Polihexanid 0,15%

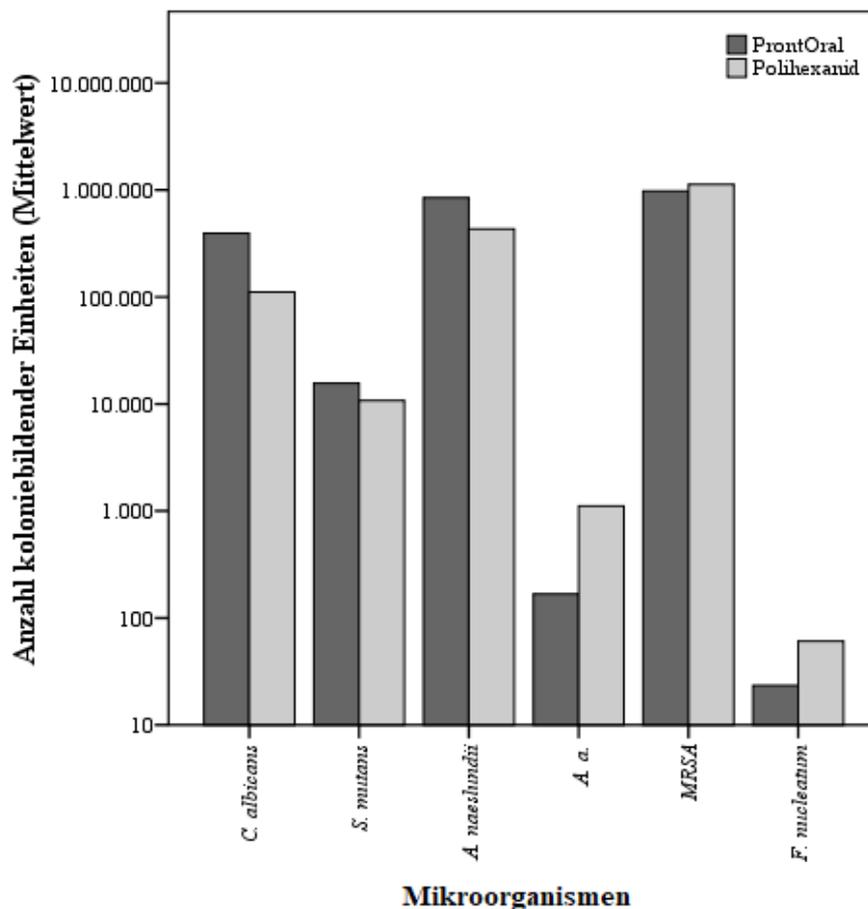


Abbildung 14: Unterschiede in der Anzahl der koloniebildenden Einheiten zwischen ProntOral und Polihexanid 0,15%

A.a. = *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Im Falle einer gezielten Bekämpfung von *MRSA* empfiehlt die Gebrauchsanweisung von ProntOral eine Einwirkzeit von 60 Sekunden. Diese wurden im Rahmen der Versuche eingehalten. Um einer Verzerrung durch unterschiedliche Einwirkzeiten entgegenzuwirken wurden diese Versuche zusätzlich ebenfalls mit einer 30-sekündigen Einwirkzeit durchgeführt. Die Unterschiede zwischen 30- und 60-sekündiger Einwirkzeit stellten sich bei selbst hergestellten Polihexanidlösung als signifikant, bei der industriell hergestellten Lösung unter Blutkontamination als nicht signifikant dar (Kruskal-Wallis-Test mit Post-hoc-Anpassung der Signifikanzwerte nach Dunn-Bonferroni, s. Tabelle 10).

	Ohne Blutkontamination (p-Wert)	Mit Blutkontamination (p-Wert)
ProntOral	0,034	0,263
Polihexanid 0,15%	0,002	0,000

Tabelle 10: Unterschied zwischen 30 und 60 Sekunden Einwirkzeit von polihexanidhaltigen Lösungen

4.5 Unterschiede polihexanidhaltiger Lösungen zu Listerine und Chlorhexidin 0,2%

Zur Beurteilung der Eignung von polihexanidhaltigen Lösungen zur Bekämpfung von Plaquebakterien wurde auf Unterschied zu Listerine und zum derzeitigen Goldstandard Chlorhexidin 0,2% mittels Kruskal-Wallis-Test geprüft (s. Tabellen 11 und 12). Die Signifikanzwerte wurden nach einem post-hoc-Test nach Dunn-Bonferroni-Methode angepasst.

	p-Wert
<i>C. albicans</i>	
+ ProntOral	0,267
+ Polihexanid 0,15%	0,005
<i>S. mutans</i>	
+ ProntOral	0,187
+ Polihexanid 0,15%	0,083
<i>A. naeslundii</i>	

	p-Wert
<i>C. albicans</i> +Blut	
+ ProntOral	0,051
+ Polihexanid 0,15%	0,001
<i>S. mutans</i> + Blut	
+ ProntOral	0,991
+ Polihexanid 0,15%	0,326
<i>A. naeslundii</i> + Blut	

+ ProntOral	0,043
+ Polihexanid 0,15%	0,374
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
<i>MRSA</i>	
+ ProntOral	0,001
+ Polihexanid 0,15%	0,039
+ ProntOral 30s	0,199
+ Polihexanid 0,15% 30s	0,330
<i>F. nucleatum</i>	
+ ProntOral	0,229
+ Polihexanid 0,15%	0,490

+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
<i>A. actinomycetemcomitans</i> + Blut	
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
<i>MRSA</i> + Blut	
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
+ ProntOral 30s	0,000
+ Polihexanid 0,15% 30s	0,005
<i>F. nucleatum</i> + Blut	
+ ProntOral	0,972
+ Polihexanid 0,15%	0,442

Tabelle 11: Unterschiede polihexanidhaltiger Lösungen zu Listerine

	p-Wert
<i>C. albicans</i>	
+ ProntOral	0,525
+ Polihexanid 0,15%	0,282
<i>S. mutans</i>	
+ ProntOral	0,320
+ Polihexanid 0,15%	0,158
<i>A. naeslundii</i>	
+ ProntOral	0,640
+ Polihexanid 0,15%	0,447
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	
+ ProntOral	0,623
+ Polihexanid 0,15%	0,282
<i>MRSA</i>	
+ ProntOral	0,002
+ Polihexanid 0,15%	0,081
+ ProntOral 30s	0,336
+ Polihexanid 0,15% 30s	0,196
<i>F. nucleatum</i>	
+ ProntOral	0,377
+ Polihexanid 0,15%	0,704

	p-Wert
<i>C. albicans</i> + Blut	
+ ProntOral	0,113
+ Polihexanid 0,15%	0,003
<i>S. mutans</i> + Blut	
+ ProntOral	0,140
+ Polihexanid 0,15%	0,167
<i>A. naeslundii</i> + Blut	
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
<i>A. actinomycetemcomitans</i> + Blut	
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,046
<i>MRSA</i> + Blut	
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
+ ProntOral 30s	0,003
+ Polihexanid 0,15% 30s	0,995
<i>F. nucleatum</i> + Blut	
+ ProntOral	0,407
+ Polihexanid 0,15%	0,92

Tabelle 12: Unterschiede polihexanidhaltiger Lösungen zu Chlorhexidin 0,2%
CHX = Chlorhexidin

Die in Tabelle 11 und 12 dargestellten Ergebnisse sind in Abbildung 15 visualisiert.

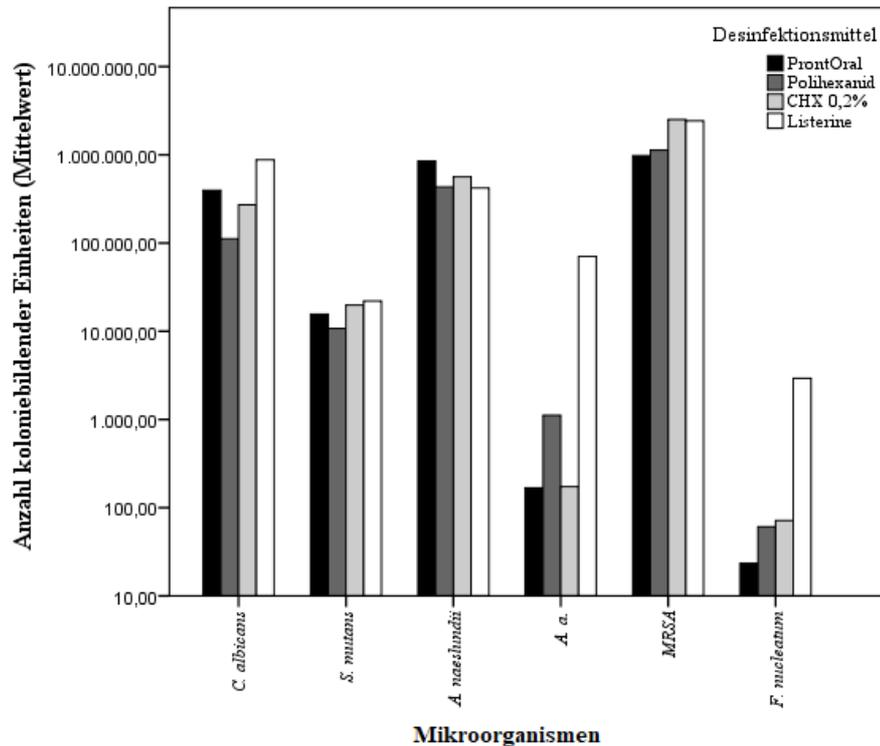


Abbildung 15: Unterschiede in der Anzahl der koloniebildenden Einheiten zwischen polihexanidhaltigen Lösungen, Chlorhexidin 0,2% und Listerine

CHX = Chlorhexidin, *A. a.* = *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

4.6 Blutkontamination und Wirksamkeit der Desinfektionslösungen

Alle Versuche wurden auch unter einer Kontamination mit Schafsblut durchgeführt. Auf statistische Unterschiede in der Anzahl an KBE nach Desinfektion wurde mit dem Kruskal-Wallis-Test getestet und die Signifikanzwerte nach einem Dunn-Bonferroni-Test korrigiert (s. Tabelle 13).

	p-Wert
<i>C. albicans</i>	
+ CHX 0,2	0,000
+ CHX 0,1	0,000
+ Listerine	0,000
+ ProntOral	0,002
+ Polihexanid 0,15%	0,001
+ NaCl	0,000
<i>S. mutans</i>	
+ CHX 0,2	0,258
+ CHX 0,1	0,617
+ Listerine	0,338
+ ProntOral	0,020
+ Polihexanid 0,15%	0,099
+ NaCl	0,308
<i>A. naeslundii</i>	
+ CHX 0,2	0,054
+ CHX 0,1	0,907
+ Listerine	0,000
+ ProntOral	0,004
+ Polihexanid 0,15%	0,007
+ NaCl	0,000

	p-Wert
<i>A. acintomycescomitans</i>	
+ CHX 0,2	0,001
+ CHX 0,1	0,000
+ Listerine	0,389
+ ProntOral	0,996
+ Polihexanid 0,15%	0,819
+ NaCl	0,101
<i>MRSA</i>	
+ CHX 0,2	0,606
+ CHX 0,1	0,687
+ Listerine	0,002
+ ProntOral	0,453
+ Polihexanid 0,15%	0,205
+ ProntOral 30sek	0,117
+ Polihexanid 0,15% 30sek	0,441
+ NaCl	0,171
<i>F. nucleatum</i>	
+ CHX 0,2	0,000
+ CHX 0,1	0,000
+ Listerine	0,000
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
+ NaCl	0,000

Tabelle 13: Unterschied durch Blutkontamination auf Desinfektionsmittel
CHX = Chlorhexidin

In Abbildung 16 sind die Unterschiede mit und ohne Blutkontamination beispielhaft für *C. albicans* visualisiert.

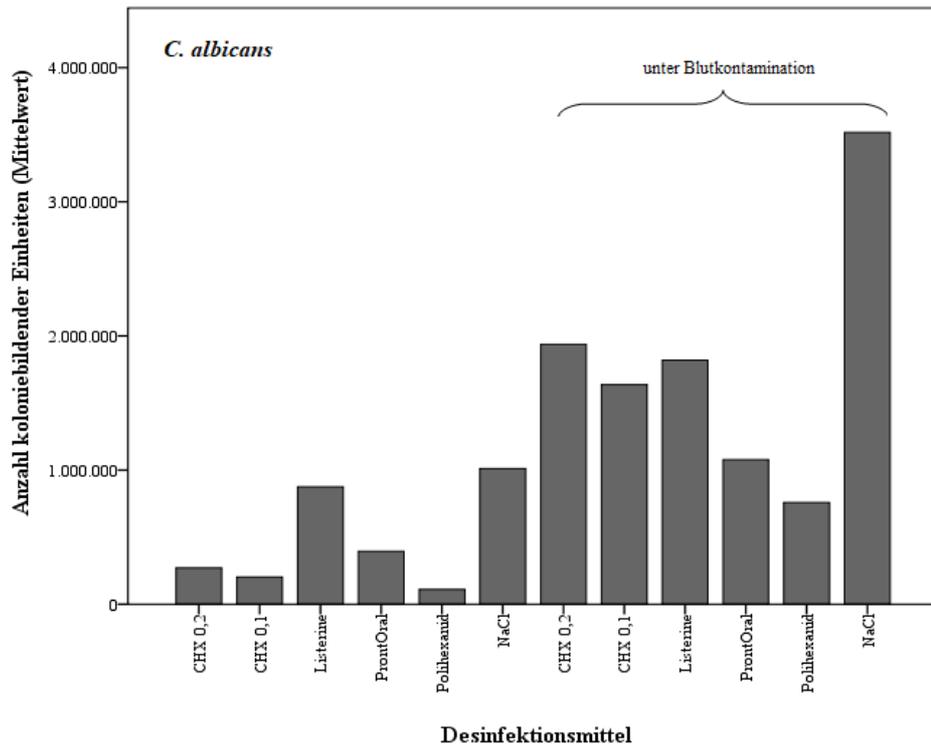


Abbildung 16: Unterschiede in der Anzahl der koloniebildenden Einheiten mit und ohne Blutkontamination am Beispiel von *Candida albicans*

CHX = Chlorhexidin

5. Diskussion

Der Aufbau der Experimente dieser Studie orientierte sich so weit wie möglich an den oralen Gegebenheiten und der Einsatzrealität von Mundspüllösungen. Nach Benutzung von oralen Antiseptika spuckt der Patient diese aus. Es kommt zur Verdünnung der vor Ort gebliebenen Wirkstoffe durch den Speichel (simuliert durch 1 ml isotoner NaCl-Spülung unmittelbar nach Beendigung der Einwirkzeit). Viele als Desinfektionsmittel eingesetzte Wirkstoffe besitzen eine sogenannte Substantivität. Dieser Begriff beschreibt die Eigenschaft eines Stoffes, über längere Zeit an Oberflächen gebunden an einem Ort zur Verfügung zu stehen. Um die Wirkung in diesem Zeitraum zu simulieren, wurden die Proben nach der Verdünnung durch die isotoner NaCl-Lösung nochmals für zehn Minuten in isotoner Kochsalzlösung gelagert. In dieser Zeit konnten Wirkstoffe ihre Substantivität, ähnlich wie auch in-vivo, nutzen. Erst nach dieser Verweildauer wurden die Überreste des Biofilms vom artifiziellen Schmelz gelöst und ausplattiert.

In-vivo bestehen orale Biofilme selbstverständlich nicht nur aus einer Reinkultur eines einzigen Erregers, sondern aus vielen, sich gegenseitig unterstützenden Mikroorganismen. Um die spezifische Wirkung der Desinfektionsmittel auf die einzelnen Erregerarten untersuchen zu können, musste jedoch dieses Zugeständnis der Monokultur gemacht werden.

Entsprechend findet eine Verdünnung der Mundspüllösungen unmittelbar bei Benetzen der Zähne sowie der Mundschleimhaut, und nicht erst nach der vorgeschriebenen Einwirkzeit statt. Da bei allen Lösungen der gleiche Versuchsaufbau verwendet wurde, sollten sich die Ergebnisse aber auf die Patientenrealität übertragen lassen.

Zum Aufbau der Versuche lässt sich somit zusammenfassen, dass sie die bekannte Problematik von in-vitro-Versuchen haben, eben nicht in-vivo durchgeführt zu sein und deshalb eine Übertragung auf den klinischen Einsatz somit immer kritisch zu hinterfragen ist.

Wirksamkeit von Polihexanidhaltigen Lösungen

In der Literatur ist die Wirksamkeit polihexanidhaltiger Lösungen zur Bekämpfung extraoraler Mikroorganismen beschrieben. Untersuchungen zur Wirksamkeit gegen intraorale Erreger sind dagegen rar gesät und beschreiben meist unspezifisch eine Reduktion der totalen Bakterienbelastung und Plaquebildung, ohne auf einzelne Leiterreger einzugehen [147–149]. MEDVEDEC MIKIĆ und Mitarbeiter konnten 2018 eine Wirksamkeit von Polihexanid zur Desinfektion des für die Endodontie interessanten Erregers *Enterokokkus faecalis* nachweisen [150].

Die Ergebnisse der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten in-vitro Versuche zeigen, dass polihexanidhaltige Lösungen geeignet sind, die Anzahl an koloniebildenden Einheiten auf einer vorgegebenen Fläche artifiziellen Hydroxyapatits wachsender, spezifischer oraler Erreger zu reduzieren. Bei fast jedem untersuchten Mikroorganismus zeigte sich nach Desinfektion mit einer polihexanidhaltigen Lösung eine signifikant geringere Anzahl an Kolonien als nach einer gleichermaßen durchgeführten Spülung mit isotonischer Kochsalzlösung. Die prozentuale Reduktion der KBE betrug hierbei je nach Erreger zwischen 84,2% und 99,98%.

Nur bei *C. albicans* und *A. naeslundii* konnte kein signifikanter Unterschied im Falle der Desinfektion mit ProntOral gezeigt werden. Prozentual gesehen, verringerte die Desinfektion mit ProntOral jedoch auch hier die Anzahl an KBE um zumindest 61% bzw. 63,5%, was durchaus als positives Ergebnis gewertet werden kann.

Polihexanidhaltige Lösungen im Vergleich zu etablierten oralen Desinfektionsmitteln

Um die Wirksamkeit in der Bekämpfung pathogener Erreger der Mundhöhle in ein Verhältnis zu etablierten Mundspüllösungen zu bringen, wurden die Versuche ebenfalls mit Listerine – einer in der Literatur sehr gut beschriebenen und untersuchten Lösung mit ätherischen Ölen als Wirkstoff - und mit Chlorhexidin 0,2% als allgemeingültigem Goldstandard in der intraoralen Desinfektion durchgeführt.

Hier zeigte sich, dass die Reduktion der KBE durch ProntOral bei allen untersuchten Erregern zumindest gleichwertig zu der durch Listerine erzielten war. Bei *A. naeslundii*, *A. actinomycetemcomitans* und *MRSA* ergaben sich sogar signifikant niedrigere Anzahlen. Ähnlich verhält es sich mit PHMB, das ebenfalls bei allen untersuchten

Mikroorganismen eine zumindest gleichwertige Kolonienreduktion erreichte. Eine signifikante Herabsetzung der Kolonienzahlen wurde bei *C. albicans*, *A. actinomycetemcomitans* und *MRSA* erreicht (vergleiche hier auch Abbildung 14).

Im Vergleich mit dem derzeitigen Goldstandard zur intraoralen Desinfektion Chlorhexidin 0,2% zeigten sich die polihexanidhaltigen Lösungen in Hinsicht auf die Reduktion der koloniebildenden Einheiten überwiegend ebenbürtig. ProntOral erbrachte bei *MRSA* sogar signifikant bessere Ergebnisse. Nach Desinfektion mit PHMB bildeten sich nicht signifikant mehr oder weniger Kolonien, als nach Anwendung von CHX 0,2%.

Wirksamkeit unter Blutkontamination

Während des professionellen Einsatzes von Antiseptika in der Mundhöhle, z.B. in der Oralchirurgie, Parodontologie oder Traumatologie, kommt es sehr häufig zur Blutkontamination der zu desinfizierenden Flächen. Um dieses Problem der intraoralen Desinfektion zu simulieren, wurden alle Versuche in der vorliegenden Arbeit ein zweites Mal durchgeführt. In diesem zweiten Durchlauf wurden die künstlichen, mit Biofilm überzogenen Hydroxylapatitproben vor Desinfektion in defibriertes Schafsblut getaucht.

Die Ergebnisse zeigten, dass die durchschnittlichen Kolonienzahlen unter Einfluss einer Verunreinigung mit Blut in beinahe allen Fällen höher lagen als ohne. Für CHX 0,2% waren dies außer bei *MRSA*, *S. mutans* und *A. naeslundii* jeweils sogar signifikante Unterschiede. In den Fällen von ProntOral war dieser Unterschied bei *A. actinomycetemcomitans* und *MRSA*, bei PHMB bei *S. mutans*, *A. actinomycetemcomitans* und *MRSA* nicht signifikant.

Im direkten Vergleich nach Blutkontamination zeigten sich bei ProntOral mit CHX 0,2% bei allen Mikroorganismen, außer bei *C. albicans*, *S. mutans* und *F. nucleatum*, signifikante Unterschiede. Bei PHMB ergaben sich bei *C. albicans*, *A. naeslundii* und *MRSA* signifikant weniger KBE und im Fall von *A. actinomycetemcomitans* signifikant mehr KBE als bei der Desinfektion mit CHX 0,2%.

In der Zusammenschau mit den zuvor diskutierten Ergebnissen zeigt sich also, dass polihexanidhaltige Lösungen in der nicht mit Blut kontaminierten Umgebung in

Hinsicht auf die Reduktion der KBE dem derzeitigen Goldstandard CHX 0,2% gegenüber als zumindest gleichwertig anzusehen sind. Kommt eine Verunreinigung durch Blut dazu, scheinen polihexanidhaltige Lösungen bei den meisten Erregern sogar effektiver zu sein. Dies wird auch bei einem Blick auf die prozentuale Reduktion der KBE nach Desinfektion (s. Tabelle 6) mit bis zu zwölf Prozentpunkten besseren Ergebnissen auf Seiten der polihexanidhaltigen Lösungen verdeutlicht.

Das ist nicht nur in der chirurgischen Antiseptik, sondern auch für die unterstützende Behandlung der parodontalen Erkrankungen besonders interessant. Die Anwesenheit von Blut im oralen Milieu bei diesen Erkrankungen zählt mit zu den wichtigsten Bewertungskriterien gingivaler und parodontaler Gesundheit. Das sogenannte "bleeding on probing" (Blutung nach Sondierung) ist ein häufig verwendeter Indikator des gingivalen und parodontalen Zustands und beispielsweise essentieller Bestandteil des PSI (Parodontaler Screening Index, [151]). Dies bedeutet, dass bei Patienten mit einer Parodontitis eine vermehrte Blutkontamination während der oralen Desinfektion zu erwarten ist. Diese sollte den Erfolg der Bekämpfung der ursächlichen Krankheitserreger so wenig wie möglich mindern. Polihexanid könnte sich hier somit als gut geeignetes orales Antiseptikum erweisen.

Wirksamkeit wirkstoffreduzierter Chlorhexidinlösung

An diesem Punkt gilt es, einen Blick auf den derzeitigen Goldstandard in der oralen Desinfektion zu werfen. Die Wirksamkeit von Chlorhexidin ist in vielen Studien belegt [90, 152, 153]. Die Anwendung ist dabei nicht ohne unerwünschte Arzneimittelreaktionen wie Verfärbungen der Zunge und Zähne, Schleimhautirritationen und Schmeckveränderungen [102, 103]. Da solche Reaktionen mit der Häufigkeit der Anwendung korrelieren, liegt es nahe, dass man die Konzentration des Wirkstoffes so gering wie möglich einstellt. Durch eine Verringerung der in Lösung vorliegenden Stoffmenge an Chlorhexidin ließe sich die Häufigkeit unerwünschter Wirkungen reduzieren.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass CHX 0,2% bei allen untersuchten Erregern, außer *C. albicans*, die KBE signifikant stärker verringerte als CHX 0,1%. Unter einer Kontamination mit Blut fielen die Unterschiede bei *C. albicans*, *MRSA* und *F. nucleatum* nicht signifikant aus.

Die Unterschiede in der Anzahl der KBE im Vergleich zu Listerine war bei CHX 0,1% bei allen Mikroorganismen, außer bei *A. actinomycetemcomitans*, signifikant. CHX 0,1% reduzierte die Zahl an KBE bei *C. albicans* und *F. nucleatum* stärker, während sich bei *S. mutans*, *A. naeslundii* und *MRSA* signifikant mehr KBE als nach Desinfektion mit Listerine zeigten. Unter Blutverunreinigung waren die Unterschiede in keinem Fall signifikant.

Die Wirksamkeit von CHX 0,1% erscheint nach vorliegenden Ergebnissen folglich mit der von Listerine in etwa vergleichbar. Dies deckt sich mit den in-vivo Ergebnissen von CHARLES und Mitarbeitern [154] und MCKENZIE und Mitarbeitern [155]. Diese Arbeitsgruppen verglichen CHX 0,12% mit Lösungen mit ätherischen Ölen als Wirkstoff in Hinblick auf Plaqueakkumulation und Gingivitisprävalenz. Beide Studien kamen zu dem Ergebnis, dass CHX 0,12% mit Lösungen mit ätherischen Ölen in der Wirksamkeit vergleichbar sind.

Für den klinischen Alltag bedeutet dies, dass beim professionellen Einsatz von CHX eine Konzentration von 0,2% anzuwenden ist. Eine Verdünnung unter diese Konzentration geht mit erheblichem Wirkverlust einher.

Unterschied der beiden untersuchten polihexanidhaltigen Lösungen

In ihren Studien über Mundspüllösungen konnten JENKINS, ADDY, HARPER und Mitarbeiter zeigen, dass diese sich in ihrer Wirksamkeit trotz gleicher Wirkstoffkonzentration unterscheiden [156–158]. Daher wurde auch in der vorliegenden Studie neben dem verbrauchsfertigen, zugelassenen Gesamtprodukt ProntOral ebenfalls eine Lösung untersucht, die keine Wirkstoffe außer Polihexanid 0,15% enthielt (PHMB). Im direkten Vergleich fanden sich hier in der Reduktion der KBE signifikante Unterschiede bei *C. albicans*, *A. naeslundii*, *A. actinomycetemcomitans* und *MRSA*. Unter Blutkontamination verringerten sich diese Unterschiede auf nur noch statistisch signifikante Unterschiede bei *A. naeslundii* und *A. actinomycetemcomitans*. Diese Ergebnisse unterstreichen erneut, dass die Wirkung einer Lösung nicht nur vom eigentlichen Wirkstoff beeinflusst wird, sondern durch das Zusammenspiel aller Inhaltsstoffe bestimmt wird. Auf der Verpackung der frei verkäuflichen Mundspüllösung findet sich als Inhaltsangabe neben 0,15% Polihexanid, Aroma, Natrium Cyclamate (Natriumcylamat), Surfactants (oberflächenaktive Stoffe) und

Excipients (Hilfsstoffe).

Cylamate gehören zu den künstlichen Süßstoffen, gelten heutzutage als für den menschlichen Körper unbedenklich [159] und scheinen auch Bakterien nicht außergewöhnlich zu beeinflussen [160]. Welche oberflächenaktiven Stoffe und Hilfsstoffe in der Rezeptur von ProntOral verwendet werden, kann nur spekuliert werden. Es könnte durchaus sein, dass diese die Durchdringung des Biofilms durch die Lösung begünstigen und so die etwas besseren Ergebnisse von ProntOral gegenüber PHMB erklären. So gibt es zum Beispiel auch verschiedene Ansätze, derartige oberflächenaktive Substanzen im Kampf gegen antibiotikaresistente Mikroorganismen einzusetzen [161, 162].

Ebenso könnte es jedoch auch sein, dass die täglich neu selbst hergestellte Lösung tages- und umweltabhängigen Unterschieden unterlegen war, sodass eine konstante Konzentration (im Gegensatz zum industriell hergestellten ProntOral) nicht gewährleistet werden konnte.

Einfluss der Einwirkdauer auf die Wirksamkeit gegen *MRSA*

In den hier durchgeführten Versuchen wurden die Herstellerangaben zur Dauer der Einwirkzeit befolgt. Sowohl bei der CHX-haltigen Mundspüllösung, bei Listerine, als auch bei ProntOral betrug diese Zeit im Regelfall 30 Sekunden. Nur im Fall der gezielten Bekämpfung von *MRSA* beschreibt die Firma B.Braun, Melsungen, Deutschland, bei ihrem Produkt ProntOral eine empfohlene Einwirkzeit von 60 Sekunden. Dies bedeutet, dass die guten Ergebnisse in der Reduktion der KBE bei *MRSA* durch ProntOral (und PHMB) auch auf eine im Gegensatz zu den anderen untersuchten Lösungen verlängerten Einwirkzeit zurückzuführen sind. Um eine solche Verzerrung auszuschließen, wurden zusätzlich die Versuche mit *MRSA*, entgegen der Herstellerangabe, auch mit nur 30 Sekunden Kontaktzeit durchgeführt. Erwartungsgemäß zeigten sich in allen Fällen nach der längeren Einwirkzeit signifikant weniger *MRSA*-Kolonien.

Im Vergleich zur KBE-Reduktion durch CHX 0,2% oder Listerine ergab sich im Gegensatz zur 60-sekündigen Einwirkzeit bei 30 Sekunden Kontakt kein signifikanter Unterschied. Bei zusätzlicher Blutkontamination blieb der Unterschied bei ProntOral signifikant (weniger KBE als bei CHX 0,2% bzw. Listerine). Bei PHMB 0,15% wurde

der Unterschied in beiden Fällen als statistisch nicht signifikant erkannt.

Diese Ergebnisse zeigen, dass polihexanidhaltige Lösungen auch bei 30 Sekunden Einwirkzeit geeignet sind, *MRSA* zu bekämpfen – immerhin genauso gut wie CHX 0,2% oder Listerine. Durch eine Verlängerung der Einwirkzeit kann dieses Ergebnis noch verbessert werden. Dieser Effekt ist jedoch auch bei den anderen Wirkstoffen zu erwarten.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen somit folgende Schlüsse zu:

- Lösungen mit einem 0,15-%igen Gehalt an Polihexanid haben eine antimikrobielle Wirkung gegen intraoral pathogene Erreger.
- Die Reduktion an KBE durch Listerine ist mit der durch CHX 0,1% vergleichbar.
- Die erhöhte Konzentration bei CHX 0,2% führt im Vergleich zu CHX 0,1% zu signifikant niedrigeren KBE.
- Die Wirksamkeit einer 0,15-%igen Polihexanidlösung liegt über der von Listerine.
- Die Wirksamkeit einer 0,15-%igen Polihexanidlösung ist mit der einer 0,2-%igen CHX-Lösung vergleichbar.
- Eine Blutkontamination führt bei allen untersuchten oralen Desinfektionsmitteln zu einem gewissen Wirkverlust.
- Eine Kontamination mit Blut führt bei CHX 0,2% bei den untersuchten Erregern zu deutlich geringeren Reduktionen an KBE.
- Bei gleichzeitiger Blutkontamination liegt die Reduktion an KBE durch eine

0,15%ige Polihexanidlösung höher als durch CHX 0,2%.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass polihexanidhaltige Lösungen wirksam in der Bekämpfung intraoraler pathogener Erreger sind. Die bei CHX beschriebenen, teils schwerwiegenden, nicht erwünschten Arzneimittelreaktionen sind bei diesem Wirkstoff nicht beschrieben. Dies kann an der bisher auf den extraoralen Einsatz beschränkten Anwendung von Polihexanidlösungen liegen. Neben vereinzelt beschriebenen allergischen Reaktionen sind bei Polihexanid bisher keine unerwünschten Reaktionen im extraoralen Anwendungsbereich (auch nicht im Bereich der genitalen Schleimhäute) beschrieben [163–165].

Die intraorale Desinfektion mit Polihexanid erscheint mit dem Hintergrund der vorliegenden Studie als vielversprechend und sollte weiter untersucht werden. Interessant wären hier vor allem, neben laborchemischen Studien zu Reaktionen von Polihexanid mit Zahnhartsubstanzen und zahnärztlichen Werkstoffen, auch in-vivo Studien, wie die von ROSIN und Mitarbeiter [147, 148], um den Wirkstoff gegebenenfalls im zahnärztlichen Alltag zu etablieren.

6. Zusammenfassung

Pathogene Erreger der Mundhöhle spielen eine wichtige Rolle in der Ätiologie der meisten intraoralen Erkrankungen. Zur Unterstützung der Plaque- und Mikroorganismenbekämpfung haben sich Desinfektionslösungen bewährt. Gerade im professionellen Rahmen stellt Chlorhexidin den Goldstandard in der intraoralen Desinfektion dar. Bei vielen unerwünschten Arzneimittelreaktionen ist es sinnvoll, nach Alternativen zu forschen.

In dieser Arbeit sollte der Frage nachgegangen werden, in wie weit sich polihexanidhaltige Lösungen zur Bekämpfung intraoraler Leiterreger der Karies, Parodontitis und der intraoralen Wundheilungsstörung im in-vitro Modell eignen. Hierzu wurden monokulturelle Biofilme aus jeweils *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces naeslundii*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *MRSA* und *Fusobacterium nucleatum* auf artifiziell Hydroxylapatit angezüchtet. Anschließend folgte eine Desinfektion mit Listerine, chlorhexidin-, beziehungsweise polihexanidhaltigen Lösungen und hiernach eine Spülung mit Kochsalzlösung. Im Anschluss erfolgte eine Anzucht der überlebenden koloniebildenden Einheiten und Auszählen derselben. Um die Anwendung in der zahnärztlichen beziehungsweise oralchirurgischen Praxis zu imitieren, wurden alle Versuche zusätzlich mit einer durch Eintauchen in defibriniertes Schafsblut simulierten Blutkontamination wiederholt.

In der statistischen Auswertung der gewonnenen Daten konnte gezeigt werden, dass sich polihexanidhaltige Lösungen im Vergleich zu chlorhexidinhaltigen Lösungen in Bezug auf Reduktion der koloniebildenden Einheiten als ebenbürtig, in einigen Fällen sogar effektiver, zeigten. Gerade bei gleichzeitiger Kontamination mit Blut erwiesen sich die polihexanidhaltigen Lösungen als im in-vitro Modell wirksam.

Den in-vitro Ergebnissen dieser Arbeit nach eignet sich das Antiseptikum Polihexanid gut in der Bekämpfung pathogener Erreger der Mundhöhle.

7. Literatur

1. *Bingen H von, Riha O.* Ursprung und Behandlung der Krankheiten. Causae et curae. 2. Aufl. Beuron: Beuroner Kunstverl.; 2012
2. *Li Y, Caufield PW, Dasanayake AP, Wiener HW, Vermund SH.* Mode of delivery and other maternal factors influence the acquisition of *Streptococcus mutans* in infants. *Journal of dental research* 2005; **84**: 806 – 811
3. *Patil S.* Microbial Flora in Oral Diseases. *JCDP* 2013; **14**: 1202 – 1208
4. *Crielaard W, Zaura E, Schuller AA, Huse SM, Montijn RC, Keijser BJJ.* Exploring the oral microbiota of children at various developmental stages of their dentition in the relation to their oral health. *BMC medical genomics* 2011; **4**: 22
5. *Shi W, Qin M, Chen F, Xia B.* Supragingival Microbial Profiles of Permanent and Deciduous Teeth in Children with Mixed Dentition. *PLoS ONE* 2016; **11**
6. *Loster BW, Loster J, Wieczorek A, Ryniewicz W.* Mycological Analysis of the Oral Cavity of Patients Using Acrylic Removable Dentures. *Gastroenterology Research and Practice* 2012; **2012**
7. *Gupta P, Sarkar S, Das B, Bhattacharjee S, Tribedi P.* Biofilm, pathogenesis and prevention--a journey to break the wall: a review. *Archives of microbiology* 2016; **198**: 1 – 15
8. *Hannig C, Hannig M.* The oral cavity--a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man. *Clinical oral investigations* 2009; **13**: 123 – 139
9. *Bowen WH, Burne RA, Wu H, Koo H.* Oral Biofilms. Pathogens, Matrix, and Polymicrobial Interactions in Microenvironments. *Trends in microbiology* 2018; **26**: 229 – 242
10. *White DJ.* Processes contributing to the formation of dental calculus. *Biofouling* 1991; **4**: 209 – 218
11. *Heimdahl A, Hall G, Hedberg M, Sandberg H, Söder PO, Tunér K, Nord CE.* Detection and quantitation by lysis-filtration of bacteremia after different oral surgical procedures. *Journal of Clinical Microbiology* 1990; **28**: 2205 – 2209
12. *Kinane DF, Riggio MP, Walker KF, MacKenzie D, Shearer B.* Bacteraemia following periodontal procedures. *J Clin Periodontol* 2005; **32**: 708 – 713

13. *Horliana ACRT, Chambrone L, Foz AM, Artese HPC, Rabelo MdS, Pannuti CM, Romito GA.* Dissemination of periodontal pathogens in the bloodstream after periodontal procedures: a systematic review. *PLoS ONE* 2014; **9**: e98271
14. *Horstkotte D.* Mikrobiell verursachte Endokarditis. Klinische und tierexperimentelle Untersuchungen. Heidelberg: Steinkopff; 1995
15. *Plicht B, Lind A, Erbel R.* Infektiöse Endokarditis : Neue Leitlinien 2015. *Der Internist* 2016; **57**: 675 – 690
16. *Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman KS, Mealey BL, Papapanou PN, Sanz M, Tonetti MS.* A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of periodontology* 2018; **89 Suppl 1**: S1-S8
17. *Petersen PE, Ogawa H.* Strengthening the prevention of periodontal disease: the WHO approach. *Journal of periodontology* 2005; **76**: 2187 – 2193
18. *Genco RJ.* Current view of risk factors for periodontal diseases. *Journal of periodontology* 1996; **67**: 1041 – 1049
19. *Loe H, Theildade E, Jensen SB.* Experimental Gingivitis In Man. *The Journal of periodontology* 1965; **36**: 177 – 187
20. *Tervonen T, Oliver RC, Wolff LF, Bereuter J, Anderson L, Aepli DM.* Prevalence of periodontal pathogens with varying metabolic control of diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 1994; **21**: 375 – 379
21. *Lappin DF, Eapen B, Robertson D, Young J, Hodge PJ.* Markers of bone destruction and formation and periodontitis in type 1 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 2009; **36**: 634 – 641
22. *Wang T-T, Chen TH-H, Wang P-E, Lai H, Lo M-T, Chen PY-C, Chiu SY-H.* A population-based study on the association between type 2 diabetes and periodontal disease in 12,123 middle-aged Taiwanese (KCIS No. 21). *J Clin Periodontol* 2009; **36**: 372 – 379
23. *Paizan M, Vilela-Martin J.* Is There an Association between Periodontitis and Hypertension? *CCR* 2014; **10**: 355 – 361
24. *Najeeb S, Zafar MS, Khurshid Z, Zohaib S, Almas K.* The Role of Nutrition in Periodontal Health: An Update. *Nutrients* 2016; **8**
25. *Preber H, Bergstrom J.* The effect of non-surgical treatment on periodontal pockets in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol* 1986; **13**: 319 – 323

26. *Al-Shammari KF, Al-Khabbaz AK, Al-Ansari JM, Neiva R, Wang H-L.* Risk indicators for tooth loss due to periodontal disease. *Journal of periodontology* 2005; **76**: 1910 – 1918
27. *Claffey N, Egelberg J.* Clinical indicators of probing attachment loss following initial periodontal treatment in advanced periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1995; **22**: 690 – 696
28. *Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, JR.* Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; **25**: 134 – 144
29. *Socransky SS, Smith C, Haffajee AD.* Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2002; **29**: 260 – 268
30. *Li J, Helmerhorst EJ, Leone CW, Troxler RF, Yaskell T, Haffajee AD, Socransky SS, Oppenheim FG.* Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *Journal of applied microbiology* 2004; **97**: 1311 – 1318
31. *Herbert BA, Novince CM, Kirkwood KL.* *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, a potent immunoregulator of the periodontal host defense system and alveolar bone homeostasis. *Molecular oral microbiology* 2016; **31**: 207 – 227
32. *Akrivopoulou C, Green IM, Donos N, Nair SP, Ready D.* *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotype prevalence and antibiotic resistance in a UK population with periodontitis. *Journal of global antimicrobial resistance* 2017; **10**: 54 – 58
33. *Åberg CH, Kelk P, Johansson A.* *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: virulence of its leukotoxin and association with aggressive periodontitis. *Virulence* 2015; **6**: 188 – 195
34. *Mysak J, Podzimek S, Sommerova P, Lyuya-Mi Y, Bartova J, Janatova T, Prochazkova J, Duskova J.* *Porphyromonas gingivalis*. Major periodontopathic pathogen overview. *Journal of immunology research* 2014; **2014**: 476068
35. *Olsen I, Progulsk-Fox A.* Invasion of *Porphyromonas gingivalis* strains into vascular cells and tissue. *Journal of oral microbiology* 2015; **7**: 28788
36. *Kornman KS, Robertson PB.* Clinical and microbiological evaluation of therapy for juvenile periodontitis. *Journal of periodontology* 1985; **56**: 443 – 446
37. *Raja M, Ummer F, Dhivakar CP.* *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* - a tooth killer? *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR* 2014; **8**: ZE13-6
38. *Klinger R.* Untersuchungen über menschliche Aktinomykose. *Zentralbl. Bakteriologie* 1912: 191 – 200

39. Winkelhoff AJ, Slots J. Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in nonoral infections. Periodontol 2000 1999; **20**: 122 – 135
40. Foster JS, Kolenbrander PE. Development of a multispecies oral bacterial community in a saliva-conditioned flow cell. Applied and environmental microbiology 2004; **70**: 4340 – 4348
41. Bohrer JC, Kamemoto LE, Almeida PG, Ogasawara KK. Acute Chorioamnionitis at Term Caused by the Oral Pathogen Fusobacterium Nucleatum. Hawai'i Journal of Medicine & Public Health 2012; **71**: 280 – 281
42. Swidsinski A, Dörffel Y, Loening-Baucke V, Theissig F, Rückert JC, Ismail M, Rau WA, Gaschler D, Weizenegger M, Kühn S, Schilling J, Dörffel WV. Acute appendicitis is characterised by local invasion with Fusobacterium nucleatum/necrophorum. Gut 2011; **60**: 34 – 40
43. Brook I. Fusobacterial infections in children. Current infectious disease reports 2013; **15**: 288 – 294
44. Marchesi JR, Dutilh BE, Hall N, Peters WHM, Roelofs R, Boleij A, Tjalsma H. Towards the Human Colorectal Cancer Microbiome. PLoS ONE 2011; **6**
45. Chen W, Liu F, Ling Z, Tong X, Xiang C. Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer. PLoS ONE 2012; **7**: e39743
46. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, Barnes R, Watson P, Allen-Vercoe E, Moore RA, Holt RA. Fusobacterium nucleatum infection is prevalent in human colorectal carcinoma. Genome research 2012; **22**: 299 – 306
47. Signat B, Roques C, Poulet P, Duffaut D. Fusobacterium nucleatum in periodontal health and disease. Current issues in molecular biology 2011; **13**: 25 – 36
48. Kinder SA, Holt SC. Localization of the Fusobacterium nucleatum T18 adhesin activity mediating coaggregation with Porphyromonas gingivalis T22. Journal of Bacteriology 1993; **175**: 840 – 850
49. Sharma A, Inagaki S, Sigurdson W, Kuramitsu HK. Synergy between Tannerella forsythia and Fusobacterium nucleatum in biofilm formation. Oral microbiology and immunology 2005; **20**: 39 – 42
50. Petersen PE, Ogawa H. Prevention of dental caries through the use of fluoride--the WHO approach. Community dental health 2016; **33**: 66 – 68

51. Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V). 1. Aufl. Köln: Deutscher Zahnärzte Verlag DÄV; 2016
52. *Young DA, Featherstone JDB*. Caries management by risk assessment. *Community dentistry and oral epidemiology* 2013; **41**: e53-63
53. *Arnold WH*. Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie. 66 Tab. 3. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2010
54. *Orland FJ, Blayney JR, Harrison RW, Reyniers JA, Trexler PC, Wagner M, Gordon HA, Luckey TD*. Use of the germfree animal technic in the study of experimental dental caries. I. Basic observations on rats reared free of all microorganisms. *Journal of dental research* 1954; **33**: 147 – 174
55. *Miller WD*. Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Die örtlichen und allgemeinen Erkrankungen, welche durch dieselben hervorgerufen werden. Leipzig: Verlag von Georg Thieme; 1889
56. *Ericsson Y*. Reduction of the solubility of enamel surfaces. *Acta odontologica Scandinavica* 1950; **9**: 60 – 83
57. *Mundorff-Shrestha SA, Featherstone J, Eisenberg AD, Cowles E, Curzon M, Espeland MA, Shields CP*. Cariogenic Potential of Foods. *Caries Res* 1994; **28**: 106 – 115
58. *Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A*. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; **33**: 499 – 515
59. *Clarke JK*. On the Bacterial Factor in the Aetiology of Dental Caries. *Br J Exp Path* 1924; **5**: 141 – 147
60. *Oliveira FAF, Forte CPF, Silva PGdB, Lopes CB, Montenegro RC, Santos ÂKCRD, Sobrinho CRMR, Mota MRL, Sousa FB, Alves APNN*. Molecular Analysis of Oral Bacteria in Heart Valve of Patients With Cardiovascular Disease by Real-Time Polymerase Chain Reaction. *Medicine* 2015; **94**: e2067
61. *Guo L, McLean JS, Lux R, He X, Shi W*. The well-coordinated linkage between acidogenicity and aciduricity via insoluble glucans on the surface of *Streptococcus mutans*. *Scientific reports* 2015; **5**: 18015
62. *Matsui R, Cvitkovitch D*. Acid tolerance mechanisms utilized by *Streptococcus mutans*. *Future microbiology* 2010; **5**: 403 – 417
63. *Kressirer CA, Chen T, Lake Harriman K, Frias-Lopez J, Dewhirst FE, Tavares MA, Tanner AC*. Functional profiles of coronal and dentin caries in children. *Journal of oral microbiology* 2018; **10**: 1495976

64. *Schüpbach P, Osterwalder V, Guggenheim B.* Human root caries. Microbiota of a limited number of root caries lesions. *Caries Res* 1996; **30**: 52 – 64
65. *Diaz PI, Chalmers NI, Rickard AH, Kong C, Milburn CL, Palmer RJ, Kolenbrander PE.* Molecular characterization of subject-specific oral microflora during initial colonization of enamel. *Applied and environmental microbiology* 2006; **72**: 2837 – 2848
66. *Ellen RP, Lépine G, Nghiem PM.* In vitro models that support adhesion specificity in biofilms of oral bacteria. *Advances in dental research* 1997; **11**: 33 – 42
67. *Nyvad B, Kilian M.* Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Scandinavian journal of dental research* 1987; **95**: 369 – 380
68. *Marsh PD, Bradshaw DJ.* Dental plaque as a biofilm. *Journal of industrial microbiology* 1995; **15**: 169 – 175
69. *Guo S, Dipietro LA.* Factors affecting wound healing. *Journal of dental research* 2010; **89**: 219 – 229
70. *Bjarnsholt T.* The role of bacterial biofilms in chronic infections. *APMIS. Supplementum* 2013: 1 – 51
71. *Sedghizadeh PP, Kumar SKS, Gorur A, Schaudinn C, Shuler CF, Costerton JW.* Identification of microbial biofilms in osteonecrosis of the jaws secondary to bisphosphonate therapy. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 2008; **66**: 767 – 775
72. *Otto M.* Staphylococcus aureus toxins. *Current opinion in microbiology* 2014; **17**: 32 – 37
73. *Xia J, Gao J, Kokudo N, Hasegawa K, Tang W.* Methicillin-resistant Staphylococcus aureus antibiotic resistance and virulence. *Bioscience trends* 2013; **7**: 113 – 121
74. *Wenisch C, Laferl H, Szell M, Smolle KH, Grisold A, Bertha G, Krause R.* A holistic approach to MRSA eradication in critically ill patients with MRSA pneumonia. *Infection* 2006; **34**: 148 – 154
75. *Günther F, Blessing B, Tacconelli E, Mutters NT.* MRSA decolonization failure—are biofilms the missing link? *Antimicrobial resistance and infection control* 2017; **6**: 32
76. *Kohler P, Bregenzer-Witteck A, Rettenmund G, Otterbech S, Schlegel M.* MRSA decolonization. Success rate, risk factors for failure and optimal duration of follow-up. *Infection* 2013; **41**: 33 – 40

77. *Sato T, Watanabe K, Kumada H, Toyama T, Tani-Ishii N, Hamada N.* Peptidoglycan of *Actinomyces naeslundii* induces inflammatory cytokine production and stimulates osteoclastogenesis in alveolar bone resorption. *Archives of oral biology* 2012; **57**: 1522 – 1528
78. *Zhang S-M, Qiu J, Tian F, Guo X-K, Zhang F-Q, Huang Q-F.* Corrosion behavior of pure titanium in the presence of *Actinomyces naeslundii*. *Journal of materials science. Materials in medicine* 2013; **24**: 1229 – 1237
79. *Falsetta ML, Klein MI, Colonne PM, Scott-Anne K, Gregoire S, Pai C-H, Gonzalez-Begne M, Watson G, Krysan DJ, Bowen WH, Koo H.* Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms in vivo. *Infection and immunity* 2014; **82**: 1968 – 1981
80. *Klinke T, Guggenheim B, Klimm W, Thurnheer T.* Dental caries in rats associated with *Candida albicans*. *Caries Res* 2011; **45**: 100 – 106
81. *Marsh PD.* Microbiological aspects of the chemical control of plaque and gingivitis. *Journal of dental research* 1992; **71**: 1431 – 1438
82. *Hull PS.* Chemical inhibition of Plaque. *J Clin Periodontol* 1980; **7**: 431 – 442
83. *Axelsson P, Lindhe J.* The effect of a preventive programme on dental plaque, gingivitis and caries in schoolchildren. Results after one and two years. *J Clin Periodontol* 1974; **1**: 126 – 138
84. *Amyes SGB.* Antimicrobial chemotherapy. Theory, practice and problems. London: Martin Dunitz; 1996
85. *Pithon MM, Sant'Anna LIDA, Baiao FCS, dos Santos RL, Coqueiro RdS, Maia LC.* Assessment of the effectiveness of mouthwashes in reducing cariogenic biofilm in orthodontic patients: a systematic review. *Journal of dentistry* 2015; **43**: 297 – 308
86. *Walls AWG, Meurman JH.* Approaches to caries prevention and therapy in the elderly. *Advances in dental research* 2012; **24**: 36 – 40
87. *Sharif-Abdullah SSB, Chong MC, Surindar-Kaur SS, Kamaruzzaman SB, Ng KH.* The effect of chlorhexidine in reducing oral colonisation in geriatric patients: a randomised controlled trial. *Singapore medical journal* 2016; **57**: 262 – 266
88. *Shi Z, Xie H, Wang P, Zhang Q, Wu Y, Chen E, Ng L, Worthington HV, Needleman I, Furness S.* Oral hygiene care for critically ill patients to prevent ventilator-associated pneumonia. *The Cochrane database of systematic reviews* 2013: CD008367

89. *Slee AM, O'Connor JR.* In vitro antiplaque activity of octenidine dihydrochloride (WIN 41464-2) against preformed plaques of selected oral plaque-forming microorganisms. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 1983; **23**: 379 – 384
90. *Jones CG.* Chlorhexidine. Is it still the gold standard? *Periodontol 2000* 1997; **15**: 55 – 62
91. *Davies RM, Jensen SB, Schiott CR, Loe H.* The effect of topical application of chlorhexidine on the bacterial colonization of the teeth and gingiva. *J Periodontal Res* 1970; **5**: 96 – 101
92. *Pitten F-A, Rosin M, Kramer A.* Leitlinienentwurf: Indikationen und Wirkstoffauswahl zur prophylaktischen und therapeutischen Mundhöhlenantiseptik. *Hygiene und Medizin* 2001; **26**: 418 – 424
93. *Mielke M, Hansis M.* „Prävention postoperativer Wundinfektionen“. Aktualisierte Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO). *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz* 2018; **61**: 371 – 373
94. *Pubchem.* chlorhexidine | C22H30Cl2N10 - PubChem. Im Internet: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9552079#section=Top>; Stand: 25.04.2017
95. *Karpiński TM, Szkaradkiewicz AK.* Chlorhexidine--pharmaco-biological activity and application. *European review for medical and pharmacological sciences* 2015; **19**: 1321 – 1326
96. *Rolla G, Loe H, Schiott CR.* Retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Archives of oral biology* 1971; **16**: 1109 – 1116
97. *Barkvoll P, Rolla G, Svendsen AK.* Interaction between chlorhexidine digluconate and sodium lauryl sulfate in vivo. *J Clin Periodontol* 1989; **16**: 593 – 595
98. *Kolahi J, Soolari A.* Rinsing with chlorhexidine gluconate solution after brushing and flossing teeth: a systematic review of effectiveness. *Quintessence International* 2006; **37**: 605 – 612
99. *Evans A, Leishman SJ, Walsh LJ, Seow WK.* Interference of Antimicrobial Activity of Combinations of Oral Antiseptics Against *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, and *Lactobacillus acidophilus*. *Pediatric Dentistry* 2015; **37**: 332 – 338
100. *Portenier I, Haapasalo H, Rye A, Waltimo T, Orstavik D, Haapasalo M.* Inactivation of root canal medicaments by dentine, hydroxylapatite and bovine serum albumin. *Int Endod J* 2001; **34**: 184 – 188

101. *Sassone LM, Fidel R, Fidel S, Vieira M, Hirata R.* The influence of organic load on the antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine in vitro. *Int Endod J* 2003; **36**: 848 – 852
102. *Lorenz K, Bruhn G, Heumann C, Netuschil L, Brex M, Hoffmann T.* Effect of two new chlorhexidine mouthrinses on the development of dental plaque, gingivitis, and discolouration. A randomized, investigator-blind, placebo-controlled, 3-week experimental gingivitis study. *J Clin Periodontol* 2006; **33**: 561 – 567
103. *van Strydonck DAC, Slot DE, van der Velden U, van der Weijden F.* Effect of a chlorhexidine mouthrinse on plaque, gingival inflammation and staining in gingivitis patients. A systematic review. *J Clin Periodontol* 2012; **39**: 1042 – 1055
104. *Hepsø HU, Bjørnland T, Skoglund LA.* Side-effects and patient acceptance of 0.2% versus 0.1% chlorhexidine used as post-operative prophylactic mouthwash. *International journal of oral and maxillofacial surgery* 1988; **17**: 17 – 20
105. *Sakaue Y, Takenaka S, Ohsumi T, Domon H, Terao Y, Noiri Y.* The effect of chlorhexidine on dental calculus formation. An in vitro study. *BMC oral health* 2018; **18**: 52
106. *Richards D.* Chlorhexidine mouthwash plaque levels and gingival health. *Evidence-based dentistry* 2017; **18**: 37 – 38
107. *Heyden G.* Relation between locally high concentration of chlorhexidine and staining as seen in the clinic. *J Periodontal Res* 1973; **8**: 76 – 80
108. *Gurgan CA, Zaim E, Bakirsoy I, Soykan E.* Short-term side effects of 0.2% alcohol-free chlorhexidine mouthrinse used as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a double-blind clinical study. *Journal of periodontology* 2006; **77**: 370 – 384
109. *Hammad HM, Hammad MM, Abdelhadi IN, Khalifeh MS.* Effects of topically applied agents on intra-oral wound healing in a rat model: a clinical and histomorphometric study. *International journal of dental hygiene* 2011; **9**: 9 – 16
110. *Bragger U, Schild U, Lang NP.* Effect of chlorhexidine (0.12%) rinses on periodontal tissue healing after tooth extraction. (II). Radiographic parameters. *J Clin Periodontol* 1994; **21**: 422 – 430
111. *Asboe-Jorgensen V, Attstrom R, Lang NP, Loe H.* Effect of a chlorhexidine dressing on the healing after periodontal surgery. *Journal of periodontology* 1974; **45**: 13 – 17
112. *Carcuac O, Abrahamsson I, Charalampakis G, Berglundh T.* The effect of the local use of chlorhexidine in surgical treatment of experimental peri-implantitis in

- dogs. *J Clin Periodontol* 2015; **42**: 196 – 203
113. *Bassetti C, Kallenberger A.* Influence of chlorhexidine rinsing on the healing of oral mucosa and osseous lesions. A histomorphometric study on experimental animals. *J Clin Periodontol* 1980; **7**: 443 – 456
 114. *Paunio KU, Knuttila M, Mielitynen H.* The effect of chlorhexidine gluconate on the formation of experimental granulation tissue. *Journal of periodontology* 1978; **49**: 92 – 95
 115. *Haydari M, Bardakci AG, Koldslund OC, Aass AM, Sandvik L, Preus HR.* Comparing the effect of 0.06% -, 0.12% and 0.2% Chlorhexidine on plaque, bleeding and side effects in an experimental gingivitis model. A parallel group, double masked randomized clinical trial. *BMC oral health* 2017; **17**: 118
 116. *Newton D.* Trademarked. A History of Well-Known Brands, from Airtex to Wright's Coal Tar. New York: The History Press; 2013
 117. *Claffey N.* Essential oil mouthwashes: a key component in oral health management. *J Clin Periodontol* 2003; **30 Suppl 5**: 22 – 24
 118. *Sharma N, Charles CH, Lynch MC, Qaqish J, McGuire JA, Galustians JG, Kumar LD.* Adjunctive benefit of an essential oil-containing mouthrinse in reducing plaque and gingivitis in patients who brush and floss regularly: a six-month study. *Journal of the American Dental Association (1939)* 2004; **135**: 496 – 504
 119. *Goutham BS, Manchanda K, Sarkar A de, Prakash R, Jha K, Mohammed S.* Efficacy of two commercially available Oral Rinses - Chlorohexidine and Listrine on Plaque and Gingivitis - A Comparative Study. *Journal of International Oral Health : JIOH* 2013; **5**: 56 – 61
 120. *Haffajee AD, Yaskell T, Socransky SS.* Antimicrobial effectiveness of an herbal mouthrinse compared with an essential oil and a chlorhexidine mouthrinse. *Journal of the American Dental Association (1939)* 2008; **139**: 606 – 611
 121. *Brex M, Brownstone E, MacDonald L, Gelskey S, Cheang M.* Efficacy of Listerine, Meridol and chlorhexidine mouthrinses as supplements to regular tooth cleaning measures. *J Clin Periodontol* 1992; **19**: 202 – 207
 122. *Croughan WS, Behbehani AM.* Comparative study of inactivation of herpes simplex virus types 1 and 2 by commonly used antiseptic agents. *Journal of Clinical Microbiology* 1988; **26**: 213 – 215
 123. *Fischman SL, Aguirre A, Charles CH.* Use of essential oil-containing mouthrinses by xerostomic individuals. Determination of potential for oral mucosal irritation. *American journal of dentistry* 2004; **17**: 23 – 26

124. *Fisher AA*. Allergic contact dermatitis due to thymol in Listerine for treatment of paronychia. *Cutis* 1989; **43**: 531 – 532
125. *Pubchem*. Polyhexanide | C₈H₁₉N₅ - PubChem. Im Internet: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/20977#section=Top>; Stand: 25.04.2017
126. *Gabriel GJ, Som A, Madkour AE, Eren T, Tew GN*. Infectious Disease: Connecting Innate Immunity to Biocidal Polymers. *Materials science & engineering. R, Reports : a review journal* 2007; **57**: 28 – 64
127. *Ikeda T, Ledwith A, Bamford CH, Hann RA*. Interaction of a polymeric biguanide biocide with phospholipid membranes. *Biochimica et biophysica acta* 1984; **769**: 57 – 66
128. *Brogden KA*. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nature reviews. Microbiology* 2005; **3**: 238 – 250
129. *Zhou ZX, Wei DF, Guan Y, Zheng AN, Zhong JJ*. Damage of Escherichia coli membrane by bactericidal agent polyhexamethylene guanidine hydrochloride: micrographic evidences. *Journal of applied microbiology* 2010; **108**: 898 – 907
130. *Hubner N-O, Kramer A*. Review on the efficacy, safety and clinical applications of polyhexanide, a modern wound antiseptic. *Skin pharmacology and physiology* 2010; **23 Suppl**: 17 – 27
131. *Kramer A, Daeschlein G., Kammerlander G*. Konsensusempfehlung zur Auswahl von Wirkstoffen für die Wundantiseptik. *Zeitschrift für Wundheilung* 2004: 110 – 120
132. *Kramer A, Adrian V, Adam C*. Vergleich der Toxizität von Lavasept und ausgewählten Antiseptika. *Hygiene und Medizin* 1993; **18**: 9 – 16
133. *Röhner E, Seeger JB, Hoff P, Pfitzner T, Preininger B, Andreas K, Buttgereit F, Perka C, Matziolis G*. Preferred use of polyhexanide in orthopedic surgery. *Orthopedics* 2011; **34**: e664-8
134. *Röhner E, Hoff P, Gaber T, Lang A, Vörös P, Buttgereit F, Perka C, Windisch C, Matziolis G*. Cytokine expression in human osteoblasts after antiseptic treatment: a comparative study between polyhexanide and chlorhexidine. *Journal of investigative surgery : the official journal of the Academy of Surgical Research* 2015; **28**: 1 – 7
135. *Röhner E, Kolar P, Seeger JB, Arnholdt J, Thiele K, Perka C, Matziolis G*. Toxicity of antiseptics against chondrocytes: what is best for the cartilage in septic joint surgery? *International orthopaedics* 2011; **35**: 1719 – 1723

136. *Jones L, Jones D, Houlford M.* Clinical comparison of three polyhexanide-preserved multi-purpose contact lens solutions. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association* 1997; **20**: 23 – 30
137. *Roth B, Hotz D, Mayer D, Lauchli S, Traber J.* Konsensus-Empfehlungen zum Einsatz polyhexanidhaltiger Produkte in der Behandlung von Wunden. *Praxis* 2011; **100**: 531 – 537
138. *Jukema GN, Timmers MS, Simmen H-P, Pape H-C.* Posttraumatische Osteomyelitis: bessere Behandlungsergebnisse durch innovative Vakuumversiegelungstechnik mit Instillationstherapie. *Praxis* 2018; **107**: 1015 – 1020
139. *Timmers MS, Graafland N, Bernards AT, Nelissen RGHH, van Dissel JT, Jukema GN.* Negative pressure wound treatment with polyvinyl alcohol foam and polyhexanide antiseptic solution instillation in posttraumatic osteomyelitis. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 2009; **17**: 278 – 286
140. *Wagner M.* Lokale Antisepsis bei infizierten Hüfttotalendoprothesen. *Der Orthopäde* 1995; **24**: 319 – 325
141. *B.Braun Medical AG.* Gebrauchsanweisung: MDRO (MRE-)-Dekolonisation mit Prontoderm Lösung, Wipes, Foam, Gele und ProntOral; 2017
142. *Lachapelle J-M.* A comparison of the irritant and allergenic properties of antiseptics. *European journal of dermatology : EJD* 2014; **24**: 3 – 9
143. *Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen.* Reaktivierung gefriergetrockneter Kulturen. Im Internet: https://www.dsmz.de/fileadmin/Bereiche/Microbiology/Dateien/Kultivierungshinweise/Kultivierungshinweise_neu_CD/Oeffnen_14.pdf
144. *Tukey JW.* *Exploratory data analysis.* Reading, Mass.: Addison-Wesley; 1977
145. *Shapiro SS, Wilk MB.* An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). *Biometrika* 1965; **52**: 591
146. *Kruskal WH, Wallis WA.* Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. *Journal of the American Statistical Association* 1952; **47**: 583 – 621
147. *Rosin M, Welk A, Bernhardt O, Ruhnau M, Pitten FA, Kocher T, Kramer A.* Effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse on bacterial counts and plaque. *J Clin Periodontol* 2001; **28**: 1121 – 1126

148. *Rosin M, Welk A, Kocher T, Majic-Todt A, Kramer A, Pitten FA.* The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared to an essential oil rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque regrowth. *J Clin Periodontol* 2002; **29**: 392 – 399
149. *Welk A, Splieth CH, Schmidt-Martens G, Schwahn C, Kocher T, Kramer A, Rosin M.* The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared with a triclosan rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque regrowth. *J Clin Periodontol* 2005; **32**: 499 – 505
150. *Medvedec Mikić I, Cigić L, Kero D, Kalibović Govorko D, Prpić Mehičić G, Tambić Andrašević A, Simeon P.* Antimicrobial effectiveness of polyhexamethylene biguanide on *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis* and *Candida albicans*. *Medicinski glasnik : official publication of the Medical Association of Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina* 2018; **15**: 132 – 138
151. *Ramfjord SP.* The Periodontal Disease Index (PDI). *Journal of periodontology* 1967; **38**: Suppl:602-10
152. *Escribano M, Figuera E, Martín C, Tobías A, Serrano J, Roldán S, Herrera D.* Efficacy of adjunctive anti-plaque chemical agents. A systematic review and network meta-analyses of the Turesky modification of the Quigley and Hein plaque index. *J Clin Periodontol* 2016; **43**: 1059 – 1073
153. *Boyle P, Koehlin A, Autier P.* Mouthwash use and the prevention of plaque, gingivitis and caries. *Oral diseases* 2014; **20 Suppl 1**: 1 – 68
154. *Charles CH, Mostler KM, Bartels LL, Mankodi SM.* Comparative antiplaque and antigingivitis effectiveness of a chlorhexidine and an essential oil mouthrinse: 6-month clinical trial. *J Clin Periodontol* 2004; **31**: 878 – 884
155. *McKenzie WT, Forgas L, Vernino AR, Parker D, Limestall JD.* Comparison of a 0.12% chlorhexidine mouthrinse and an essential oil mouthrinse on oral health in institutionalized, mentally handicapped adults: one-year results. *Journal of periodontology* 1992; **63**: 187 – 193
156. *Jenkins S, Addy M, Newcombe RG.* Dose response of chlorhexidine against plaque and comparison with triclosan. *J Clin Periodontol* 1994; **21**: 250 – 255
157. *Addy M, Wade W.* An approach to efficacy screening of mouthrinses: studies on a group of French products (I). Staining and antimicrobial properties in vitro. *J Clin Periodontol* 1995; **22**: 718 – 722

158. *Harper PR, Milsom S, Wade W, Addy M, Moran J, Newcombe RG.* An approach to efficacy screening of mouthrinses: studies on a group of French products (II). Inhibition of salivary bacteria and plaque in vivo. *J Clin Periodontol* 1995; **22**: 723 – 727
159. *Cook CE.* Cyclamates: a review of the current position. *Current medical research and opinion* 1975; **3**: 218 – 224
160. *Drasar BS, Crowther JS, Goddard P, Hawksworth G, Hill MJ, Peach S, Williams REO, Renwich A.* The relation between diet and the gut microflora in man. *Proc. Nutr. Soc.* 1973; **32**: 49 – 52
161. *Pinazo A, Manresa MA, Marques AM, Bustelo M, Espuny MJ, Pérez L.* Amino acid-based surfactants. New antimicrobial agents. *Advances in colloid and interface science* 2016; **228**: 17 – 39
162. *Inès M, Dhouha G.* Lipopeptide surfactants. Production, recovery and pore forming capacity. *Peptides* 2015; **71**: 100 – 112
163. *Elzinga G, van Doorn J, Wiersema AM, Klicks RJ, Andriessen A, Alblas JG, Spits H, Post A, van Gent M.* Clinical evaluation of a PHMB-impregnated biocellulose dressing on paediatric lacerations. *Journal of wound care* 2011; **20**: 280 – 284
164. *Lee CK, Chua YP, Saw A.* Antimicrobial Gauze as a Dressing Reduces Pin Site Infection: A Randomized Controlled Trial. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 2011; **470**: 610 – 615
165. *Gerli S, Bavetta F, Di Renzo GC.* Antisepsis regimen in the surgical treatment of HPV generated cervical lesions: polyhexamethylene biguanide vs chlorhexidine. A randomized, double blind study. *European review for medical and pharmacological sciences* 2012; **16**: 1994 – 1998

8. Anhang

	p-Wert
<i>C. albicans</i>	
+ CHX 0,2%	0,005
+ CHX 0,1%	0,001
+ Listerine	0,472
+ ProntOral	0,069
+ Polihexanid 0,15%	0,000
<i>S. mutans</i>	
+ CHX 0,2%	0,000
+ CHX 0,1%	0,000
+ Listerine	0,000
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
<i>A. naeslundii</i>	
+ CHX 0,2%	0,061
+ CHX 0,1%	0,007
+ Listerine	0,000
+ ProntOral	0,169
+ Polihexanid 0,15%	0,005
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	
+ CHX 0,2%	0,000
+ CHX 0,1%	0,000
+ Listerine	0,058
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
<i>MRSA</i>	
+ CHX 0,2%	0,000
+ CHX 0,1%	0,395
+ Listerine	0,001
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
+ ProntOral 30s	0,000
+ Polihexanid 0,15% 30s	0,023
<i>F. nucleatum</i>	
+ CHX 0,2%	0,000
+ CHX 0,1%	0,078
+ Listerine	0,000

	p-Wert
<i>C. albicans</i> +Blut	
+ CHX 0,2%	0,216
+ CHX 0,1%	0,060
+ Listerine	0,384
+ ProntOral	0,004
+ Polihexanid 0,15%	0,807
<i>S. mutans</i> + Blut	
+ CHX 0,2%	0,000
+ CHX 0,1%	0,000
+ Listerine	0,000
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
<i>A. naeslundii</i> + Blut	
+ CHX 0,2%	0,001
+ CHX 0,1%	0,537
+ Listerine	0,386
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
<i>A. actinomycetemcomitans</i> + Blut	
+ CHX 0,2%	0,000
+ CHX 0,1%	0,206
+ Listerine	0,007
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
<i>MRSA</i> + Blut	
+ CHX 0,2%	0,000
+ CHX 0,1%	0,011
+ Listerine	0,127
+ ProntOral	0,000
+ Polihexanid 0,15%	0,000
+ ProntOral 30s	0,000
+ Polihexanid 0,15% 30s	0,000
<i>F. nucleatum</i> + Blut	
+ CHX 0,2%	0,222
+ CHX 0,1%	0,651
+ Listerine	0,034

+ ProntOral	0,000	+ ProntOral	0,039
+ Polihexanid 0,15%	0,000	+ Polihexanid 0,15%	0,185

Tabelle 14: Unterschiede Desinfektionsmittel zu Kochsalzlösung
CHX = Chlorhexidin

8.1 Abkürzungsverzeichnis

ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adenosintriphosphat
BRONJ	Bisphosphonatassoziierte Osteonekrose des Unterkiefers
BZAK	Bundeszahnärztekammer
CHX	Chlorhexidin
CXCL	Leukin der CXC-Familie
DGKH	Deutsche Gesellschaft für Krankenhaushygiene
DMS	Deutsche Mundgesundheitsstudie
DSM	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
G-CSF	Granulozyten-Koloniestimulierender Faktor
GM-CSF	Granulozyten-Monozyten-Koloniestimulierender Faktor
hβD	humanes Betadefensin
IDZ	Institut der Deutschen Zahnärzte
IL	Interleukin
KBE	Koloniebildende Einheit
KZBV	Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung
LD50	Lethale Dosis 50%
MBC	Minimale bakterizide Konzentration
MIC	Minimale bakteriostatische Konzentration
PHMB	Polyhexamethylenbiguanid (Polihexanid)
PO	ProntOral
WHO	World Health Organisation

8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Indikationen zur prophylaktischen und therapeutischen Mundhöhlenantiseptik der DGKH	1
Tabelle 2	Sammlungsnummern der verwendeten Mikroorganismen	21
Tabelle 3	Verwendete Desinfektionsmittel mit Wirkstoffen	23
Tabelle 4	Inkubationszeiten der untersuchten Mikroorganismen	26
Tabelle 5	Deskriptive Statistik	30
Tabelle 6	Prozentuale Reduktion an koloniebildenden Einheiten im Vergleich zu isotoner Kochsalzlösung	31
Tabelle 7	Unterschiede zwischen Chlorhexidin 0,2% und Chlorhexidin 0,1%	32
Tabelle 8	Unterschiede zwischen Chlorhexidin 0,1% und Listerine	32
Tabelle 9	Unterschiede zwischen ProntOral und Polihexanid 0,15%	33
Tabelle 10	Unterschiede zwischen 30 und 60 Sekunden Einwirkzeit von polihexanidhaltigen Lösungen bei <i>MRSA</i>	34
Tabelle 11	Unterschiede polihexanidhaltiger Lösungen zu Listerine	35
Tabelle 12	Unterschiede polihexanidhaltiger Lösungen zu Chlorhexidin 0,2%	35
Tabelle 13	Unterschiede durch Blutkontamination auf Desinfektionsmittel	37
Tabelle 14	Unterschiede Desinfektionsmittel zu Kochsalzlösung	63

8.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Dentaler Biofilm	3
Abbildung 2	Einteilung der Erkrankungen des Zahnhalteapparats	5
Abbildung 3	Komplexpyramide nach Socransky	6
Abbildung 4	Multibandapparatur und Biofilm bei einem Patienten in kieferorthopädischer Behandlung	12
Abbildung 5	Strukturformel Chlorhexidin	14
Abbildung 6	Verfärbungen, die durch Chlorhexidin hervorgerufen wurden	15
Abbildung 7	Strukturformel Polihexanid	17
Abbildung 8	Anzucht der Erreger	23
Abbildung 9	Hydroxylapatit-Plättchen in 48er-Mikrotiterplatte	24
Abbildung 10	Desinfektion	24
Abbildung 11	Verdünnungsreihe	25
Abbildung 12	Ausplattieren	26
Abbildung 13	Hydroxylplättchen nach dem Eintauchen in Schafsblut	27
Abbildung 14	Unterschiede in der Anzahl der koloniebildenden Einheiten zwischen ProntOral und Polihexanid 0,15%	33
Abbildung 15	Unterschiede in der Anzahl der koloniebildenden Einheiten zwischen polihexanidhaltigen Lösungen, Chlorhexidin 0,2% und Listerine	36
Abbildung 16	Unterschiede in der Anzahl der koloniebildenden Einheiten mit und ohne Blutkontamination am Beispiel von <i>Candida albicans</i>	38

8.4 Verzeichnis der verwendeten Geräte

- Eppendorf Research® (variabel) 100-1000 µl, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- Eppendorf Research® (variabel) 10-100 µl, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- petriturn-M, schuett-biotec GmbH, Göttingen, Deutschland
- Reaktionsgefäß-Ständer, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland
- Sicherheitswerkbank, Shel Lab, Cornelius, OR, USA
- Stericult 3311, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
- Vortex Mixer, neoLab Migge GmbH, Heidelberg, Deutschland

8.5 Verzeichnis der Verbrauchsmaterialien

- BD GasPakTMEZ Anaerob-Entwickler, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
- Cellstar® 48 Well, Greiner Bio One, Kremsmünster, Österreich
- Einmal-Impfösen, z. B. VWR 631-7133, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland
- Einmalspatel (T-Form), z. B. VWR 612-2652, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland
- epT.I.P.S.® Pipettenspitzen (2-200 µl, 53 mm), Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- epT.I.P.S.® Pipettenspitzen (50-1.000 µl, 71 mm), Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
- Hydroxylapatit-Plättchen, Clarkson Chromatography Products Inc., South Williamsport, PA, USA
- Reagiergefäß 1,5ml, Easy Cap, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland
- Röhrchen, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Österreich

8.6 Zusammensetzung verwendeter Nährmedien und Chemikalien

Schaedler-Agar:

- Schaedler Agar mit 5% Schafsblut (BD Diagnostic Systems, Heidelberg, Deutschland)

Zusammensetzung pro Liter destilliertem Wasser:

- Pankreatisch abgebautes Casein 8,2 g
- Peptisch abgebautes Tiergewebe 2,5g
- Papainisch abgebautes Sojamehl 1,0g
- Glucose 5,8g
- Hefeextrakt 5,0g
- Natriumchlorid 1,7g
- Dikaliumphosphat 0,8g
- L-Cystin 0,4g
- Hämin 0,01g
- Vitamin K 10,01g
- Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan 3,0g
- Agar 13,5g
- Schafsblut, defibriniert 5 %

Brain-Heart-Infusion-Broth:

Bacto™ Brain Heart Infusion (BD Diagnostic Systems, Heidelberg, Deutschland)

Zusammensetzung pro Liter destilliertem Wasser:

- Kalbshirn 7,7g
- Rinderhirn 9,8g
- Proteose Pepton 10g
- Dextrose 2g
- NaCl 5g
- Na₂HPO₄ 2,5g

Yeast-Peptone-Dextrose-Broth:

Difco™ YPD Broth (BD Diagnostic Systems, Heidelberg, Deutschland)

Zusammensetzung pro Liter destilliertem Wasser:

- Hefeextrakt 10g
- Pepton 20g
- Dextrose 20g

Modifizierte Peptone-Yeast-Glucose-Broth:

Rezept für einen Liter PYG-Broth:

- Pepton 10g
- Hefeextrakt 10g
- Rinderextrakt 5g
- Glukose 5g
- Dikaliumhydrogenphosphat (K_2HPO_4) 2g
- Tween 80 1ml
- Cystein-HCl x H_2O 0,5g
- Resazurin 1mg
- Salz-Lösung (s.u.) 40ml
- Destilliertes Wasser 950ml
- Haemin-Lösung (s.u.) 10ml
- Vitamin- K_1 -Lösung (s.u.) 0,2ml

Die Vitamin- K_1 -, die Haemin-Lösung und das Cystein werden hinzugegeben, nachdem das Medium aufgeköcht und unter CO_2 -Atmosphäre abgekühlt ist. Mit achtmolarer Natronlauge auf pH 7,2 einstellen und unter Stickstoff schütteln und dann sterilisieren.

Salz-Lösung für PYG-Broth:

- CaCl x 2 H_2O 0,25g
- MgSO₄ x 7 H_2O 0,5g
- K_2HPO_4 1g
- KH_2PO_4 1g
- NaHCO₃ 10g

NaCl 2g

Destilliertes Wasser 1000ml

Haemin-Lösung für PYG-Broth:

50mg Haemin in 1ml einmolarer Natronlauge lösen und auf 100ml mit destilliertem Wasser auffüllen. Kann in Glasflasche im Kühlschrank gelagert werden.

Vitamin-K1-Lösung für PYG-Broth:

0,1ml Vitamin-K1 in 20ml Ethanol (95%) auflösen und filtersterilisieren. Kann in brauner Glasflasche im Kühlschrank gelagert werden.

Sonstige verwendete Chemikalien:

- Aqua ad iniectiones, Diaco Biofarmaceutici, Triest, Italien
- Dynexidin® forte, Chemische Fabrik Kreussler & Co. GmbH, Wiesbaden, Deutschland
- Isotonische Kochsalzlösung 0,9, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland
- Polyhexanid-Lösung 20%, Calachem Fine Chemicals, Grangemouth, Schottland, Vereinigtes Königreich
- ProntOral®, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
- Defibriniertes Schafsblut, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA

9 Danksagung

An erster Stelle möchte ich Frau Prof. Dr. Karin Christine Huth herzlich für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung aller notwendigen Mittel zur Durchführung der Versuche danken.

Des Weiteren danke ich Herrn Prof. Dr. Reinhard Hickel, Direktor der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie und Dekan der Medizinischen Fakultät, dass ich diese Arbeit in seiner Klinik durchführen durfte.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. Maximilian Kollmuß für die fachlich und menschlich hervorragende Betreuung. Vielen Dank für den hohen Einsatz, die zahlreichen Tipps im Labor und Korrekturen der Arbeit sowie kritischen und qualifizierten Ratschläge.

Abschließend möchte ich mich bei meinen Eltern für ihre Unterstützung danken, die sie mir in allen Lebenslagen bieten.

Eidesstattliche Versicherung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation

"Eignung des Antiseptikums Polyhexanid im in-vitro Biofilm-Modell zur Bekämpfung pathogener Erreger der Mundhöhle"

selbstständig angefertigt habe, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Jena, den 26.08.2021

Dr. med. Konrad Tolksdorf