Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Endodontologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Wolfgang H.-M. Raab
Sektion Parodontologie
Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Thomas Beikler

Der Einfluss eines proanthocyanidinhaltigen pflanzlichen Extraktes aus Sauerampfer (*Rumex acetosa* L.) auf die intraorale Kolonisation mit *Porphyromonas gingivalis:* eine klinische Pilotstudie

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Regina Sabine Adyani-Fard

2013

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

gez. Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf
Dekan

Referent:	Univ.-Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Thomas Beikler
Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. med. dent. Alfons Hugger

Eigene Veröffentlichung

Publikation von Teilen der Arbeit:

Adyani-Fard S, Schmuch J, Beckert S, Hensel A, Beikler T

Proanthocyanidin-enriched extract from *Rumex acetosa* L. as a prophylactic agent against *Porphyromonas gingivalis*: a clinical pilot trial

Planta Med 13; 79 - PB2, 2013

Posterpräsentation anlässlich des "61st International Congress and Annual Meeting of the Society for Medical Plant and Natural Product Research (GA)", 01.-05.09.2013, Münster, Deutschland

ZUSAMMENFASSUNG

„Der Einfluss eines proanthocyanidinhaltigen pflanzlichen Extraktes aus Sauerampfer (*Rumex acetosa* L.) auf die intraorale Kolonisation mit *Porphyromonas gingivalis*: eine klinische Pilotstudie“

Regina Sabine Adyani-Fard

Fragestellung und Ziel: Ziel dieser randomisierten, placebokontrollierten, doppelblinden klinischen Studie ist die Untersuchung der antiadhäsiven Wirkung einer *Rumex acetosa* L.-haltigen Mundspüllösung auf das parodontopathogene Bakterium *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*). Ferner sollen die cytoprotektiven Eigenschaften im Bezug zur klinischen Relevanz und die Anwendungssicherheit der Testlösung untersucht werden.
Methodik: Plaque- und Mukosaabstriche von 249 allgemein und parodontal gesunden Personen wurden mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) auf die Prävalenz von *P.g.* getestet. Von den 42 *P.g.* positiven Probanden nahmen final 35 an dieser Studie teil und erhielten eine supragingivale Zahnreinigung. Im Anschluss wurden sie zufällig der Verum- (n= 18) und Placebogruppe (n= 17) zugeteilt und instruiert 3x täglich für 7 Tage mit der jeweiligen Mundspüllösung (Verum aus *Rumex acetosa* L. Extrakt 0,8% (w/w) oder Placebolösung) zusätzlich zur häuslichen Mundhygiene zu spülen. Plaqueproben wurden zur Baseline, sowie am 2., 4., 7. und 14. Tag nach der Baselineuntersuchung entnommen. Mittels quantitativer realtime-PCR wurden der Gehalt an *P.g.,* 8 weiteren oralpathogenen Mikroorganismen (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Treponema denticola, Tannerella forsythia, Prevotella nigrescens, Prevotella intermedia, Eikenella corrodens, Streptococcus mutans* und *Candida albicans*) und 4 kommensalen Bakterien (*Streptococcus sanguinis, Streptococcus mitis, Veillonella parvula* und *Actinomyces viscosus*) über den gesamten Studienzeitraum untersucht. Zusätzlich wurden der Approximalraum-Plaque-Index (API) und der modifizierte Sulkus-Blutungs-Index (SBI) erhoben. Durch die Entnahme von Bürstenbiopsien zur Baseline und am 7. Tag sollten mögliche dysplastische Veränderungen der Mundschleimhaut als Reaktion auf die Mundspüllösungen festgestellt werden.
Ergebnisse und Diskussion: In der Placebogruppe nahm die Prävalenz von *P.g.* im Vergleich zur Baseline am 2. ($p= 0,009$), 4. ($p= 0,002$) und 7. Tag ($p= 0,002$) signifikant ab, in der Verumgruppe hingegen nicht. Eine erhöhte Prävalenz anderer oralpathogener Mikroorganismen oder eine signifikante Reduktion der kommensalen Bakterien konnte nicht nachgewiesen werden. In der Verumgruppe war der mediane API am 7. ($p= 0,02$) und 14. Tag ($p= 0,009$) gegenüber dem Screening signifikant reduziert. In Korrelation dazu zeigte sich der SBI am 7. ($p< 0,001$) und 14. Tag ($p= 0,003$) auf einem ebenfalls signifikant reduzierten Niveau. In der Placebogruppe war nur der SBI am 7. Tag ($p= 0,003$) im Vergleich zur Baseline signifikant reduziert. Zwischen der Verum- und Placebogruppe konnten keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf API, SBI sowie der Prävalenz von *P.g.* und anderer Mikroorganismen festgestellt werden. Unerwünschte Nebenwirkungen oder cytopathologische Veränderungen der Mundschleimhaut traten während des Untersuchungszeitraums in der Verumgruppe nicht auf. Aufgrund der antiadhäsiven Wirkung von *Rumex acetosa* L. kann *P.g.* nicht mehr an die Wirtszellen adhärieren und ins Gewebe invadieren. Dies führt eventuell zur Erhöhung der Anzahl freier Bakterien und folglich zum unterschiedlichen Prävalenzverhalten von *P.g.* in beiden Gruppen.
Schlussfolgerung: Die Ergebnisse zeigen, dass der 7-tägige Gebrauch einer *Rumex acetosa* L.-haltigen Mundspüllösung in Kombination mit einer professionellen Zahnreinigung die Plaquebildung hemmt und einen antiinflammatorischen Effekt ausübt. Für den gleichen Anwendungszeitraum kann ebenfalls die mikrobiologische und cytopathologische Unbedenklichkeit ausgesprochen werden. Der genaue Einfluss von *Rumex acetosa* L. auf *P.g.* in seiner planktonischen intraoralen Lebensform bleibt weiter zu untersuchen.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A.a.	*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
Abb.	Abbildung
Act.	*Actinomyces viscosus*
API	Approximalraum-Plaque-Index
bp	Basenpaar
C.albicans	*Candida albicans*
DMFT	Decayed Missing Filled Teeth
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
E.c.	*Eikenella corrodens*
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
MiBi	Mikrobiologische Probenentnahme
MMP	Matrixmetalloproteinase
MW	arithmetischer Mittelwert
PCR	polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
P.g.	*Porphyromonas gingivalis*
PGE_2	Prostaglandin E_2
P.i.	*Prevotella intermedia*
P.n.	*Prevotella nigrescens*
PSI	Parodontaler Screening Index
PZR	Professionelle Zahnreinigung
qrt-PCR	quantitative realtime-Polymerase-Kettenreaktion

RA	*Rumex acetosa* L.
RA1	*Rumex acetosa* L. Extrakt (0,8%)
rpm	revolutions per minute
SAF	Prüfarzt Sabine Adyani-Fard
SD	Standardabweichung
S.sang.	*Streptococcus sanguinis*
SBI	modifizierter Sulkus-Blutungs-Index
S.mitis	*Streptococcus mitis*
S.mutans	*Streptococcus mutans*
ST	Sondierungstiefe
Taq	*Thermophilus aquaticus*
T.d.	*Treponema denticola*
T.f.	*Tannerella forsythia*
TNF	Tumornekrosefaktor
UKD	Universitätsklinikum Düsseldorf
Veill.	*Veillonella parvula*
V1	Screeningvisit
V2	Visit 2 (0. Tag)
V3	Visit 3 (2. Tag)
V4	Visit 4 (4. Tag)
V5	Visit 5 (7. Tag)
V6	Visit 6 (14. Tag)
V7	Visit 7 (42. Tag)
V8	Visit 8 (84. Tag)

INHALTSVERZEICHNIS

Zusammenfassung I

Abkürzungsverzeichnis II

Inhaltsverzeichnis IV

1 Einleitung 1

1.1 Parodontitis 1

1.1.1 Epidemiologie 1

1.1.2 Ätiologie und Pathogenese 2

1.1.3 *Porphyromonas gingivalis* 3

1.1.4 Therapie 5

1.1.5 Prävention 6

1.2 Zukünftige Präventionsstrategien gegen *Porphyromonas gingivalis* 8

1.2.1 Impfung 8

1.2.2 Antibiotika 9

1.2.3 Probiotika 9

1.2.4 Replacement 10

1.2.5 Antiadhäsiva 11

1.2.6 Phytotherapeutika 12

1.3 Sauerampfer (*Rumex acetosa* L.) 14

1.4 Zielsetzung und Arbeitshypothese 16

2 Material und Methode 17

2.1 Studiendesign 17

2.2 Probanden 17

2.2.1 Einschlusskriterien 17

2.2.2 Ausschlusskriterien 18

2.2.3 Abbruchkriterien 19

2.2.4 Komplikationen und Risiken durch die Untersuchungsmethoden 19

2.3 Mundspüllösung 19

2.3.1 Rezeptur Verum 19

2.3.2 Rezeptur Placebo 20

2.3.3 Unerwünschte Nebenwirkungen 21

2.4 Randomisierung 22
2.5 Studienablauf 22
2.6 Molekularbiologische Methoden 25
2.6.1 DNA Isolation 26
2.6.2 PCR 27
2.6.3 Gel-Elektrophorese 28
2.6.4 Quantitative realtime-PCR 29
2.7 Cytopathologische Methoden 33
2.8 Datenverarbeitung und statistische Analyse 34

3 Ergebnisse 36

3.1 Demographie 36
3.2 Klinische Ergebnisse 37
3.3 Befragung der Probanden 40
3.4 Mikrobiologische Ergebnisse 41
3.4.1 Prävalenz *Porphyromonas gingivalis* 41
3.4.2 Prävalenz anderer oralpathogener Mikroorganismen 44
3.4.3 Prävalenz kommensaler Bakterien 54
3.5 Cytopathologische Ergebnisse 59

4 Diskussion 60

4.1 Fragestellung 60
4.2 Material und Methode 60
4.2.1 Probanden 60
4.2.2 Studiendesign 61
4.2.3 Erhebung klinischer Parameter 64
4.2.4 Erhebung mikrobiologischer Parameter 64
4.3 Ergebnisse 65

5 Schlussfolgerung 72

6 Literaturverzeichnis 74

7 Anhang 88

Datentabellen der Studienauswertung

Danksagung

Eidesstattliche Versicherung

1 Einleitung

1.1 Parodontitis

1.1.1 Epidemiologie

Laut der im Jahr 2007 durchgeführten bundesweiten Erhebung zur Dokumentation der „Ursachen des Zahnverlustes in Deutschland“ stellt die Parodontitis die häufigste Extraktionsursache bei Patienten im Alter von ≥ 18 Jahren dar, siehe **Abb. 1** (Glockmann, Panzer et al. 2011).

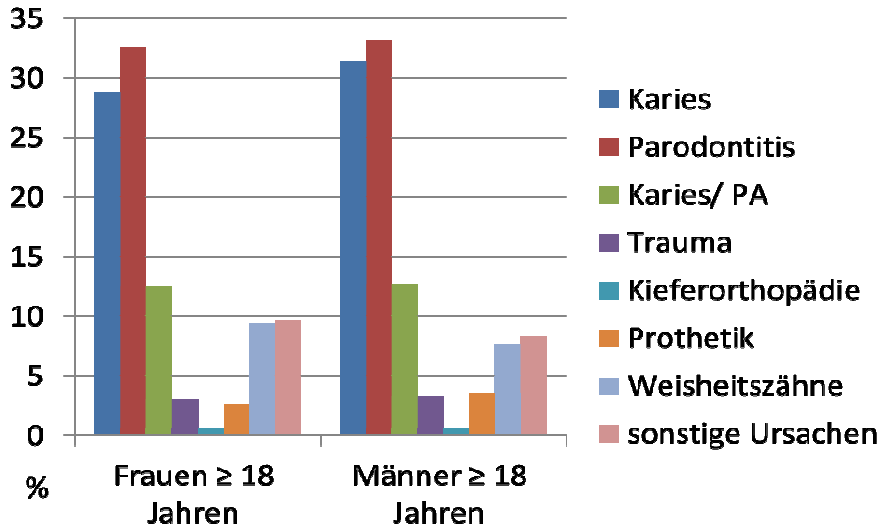

Abb. 1: Häufigkeit der Extraktionsursachen im Jahr 2007 in Deutschland, modifiziert nach (Glockmann, Panzer et al. 2011).

Parodontitiden betreffen alle Altersgruppen, wobei die Prävalenz, das Ausmaß und der Schweregrad der Erkrankung mit dem Alter zunehmen. Bereits 12,6 % der Jugendlichen mit 15 Jahren leiden an einer mittelschweren und 0,8 % an einer schweren Form der Parodontitis.

In der Altersgruppe der Erwachsenen von 35 bis 44 Jahren steigt die Prävalenz auf 52 % mit mittelschwerer Form, respektive 20,5 % mit einer schweren Verlaufsform.

Am weitesten verbreitet ist die Parodontitis unter den älteren Menschen. In der Gruppe der 65- bis 74-Jährigen sind 48,0 % von einer mittelschweren Ausprägungsform der Parodontitis betroffen, bei 39,8 % kann eine schwere Form des Attachmentverlustes diagnostiziert werden (Micheelis and Schiffner 2006).

1.1.2 Ätiologie und Pathogenese

Die Parodontitis ist eine polymikrobielle Biofilminfektion, die zu einer entzündlich bedingten Destruktion der Gingiva, des Parodonts und des Alveolarknochens führt. Diese in der Regel chronisch voranschreitende Schädigung des Zahnhalteapparates führt unbehandelt zur Zahnlockerung und schlussendlich zum Zahnverlust.

Neben der individuellen Immunantwort des Wirtes (Michalowicz, Diehl et al. 2000) und weiteren Risiko- und Umweltfaktoren, wie Rauchen, Stress und Diabetes mellitus (Van Dyke and Sheilesh 2005), ist die qualitative und quantitative Zusammensetzung der subgingivalen Plaque verantwortlich für das Zustandekommen und die Progression der Parodontitis (van Winkelhoff, Loos et al. 2002). Nur vergleichsweise wenige der circa 19.000 in der Mundflora identifizierten Phylotypen (Keijser, Zaura et al. 2008) stehen im ätiologischen Zusammenhang mit marginalen Parodontitiden (Clark and Loe 1993; Darveau, Tanner et al. 1997; Harper-Owen, Dymock et al. 1999). Neben *Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Tannerella forsythia, Treponema denticola, Prevotella intermedia* und *Eikenella corrodens* zählt *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) zu einem der Hauptvertreter (Haffajee and Socransky 1994; Socransky, Haffajee et al. 1998).

Interessanterweise lassen sich diese parodontopathogenen Erreger nicht nur in den Zahnfleischtaschen, sondern auch in allen anderen intraoralen Habitaten, wie supra- und subgingivale Plaque, Mundschleimhaut, Zunge und Tonsillen, detektieren (Beikler, Abdeen et al. 2004; Paster, Olsen et al. 2006). Bei etwa 20-40% der parodontal gesunden Individuen können die mit einer Parodontitis assoziierten Keime ebenfalls intraoral nachgewiesen werden (Ximenez-Fyvie, Haffajee et al. 2000). Dieses gilt als Risikofaktor für die spätere Entwicklung einer Parodontitis (Feng and Weinberg. 2006).

Voraussetzung für die Etablierung einer Parodontitis ist eine Plaque-assoziierte Gingivitis. Je nach Virulenzfaktoren setzen die parodontopathogenen Bakterien des supragingivalen Biofilms toxische Stoffwechselprodukte und Enzyme frei (Darveau, Tanner et al. 1997), die eine lokale Entzündungsreaktion des Gewebes initiieren. Sollte das Gleichgewicht zwischen dem Plaquebefall und der Immunantwort des Wirtes gestört sein, kommt es zu einem nach apikal gerichteten Wachstum des Biofilms und daraus resultierend zu einer Veränderung der

Entzündungsreaktion. Neben dem direkten bakteriellen Insult dominieren folgend die katabolen Mediatoren wirtseigener Zellen das Entzündungsgeschehen. Hierbei führen Matrixmetalloproteinasen als lytische Enzyme und proinflammatorische Cytokine und Mediatoren (IL-1, IL-6 TNF-α, PGE_2, INF-γ) zur Destruktion des parodontalen Gewebes und Alveolarknochens (Gemmell, Marshall et al. 1997; Kornman, Page et al. 1997; Reynolds and Meikle 1997).

Auch wenn diese lokal entzündliche Erkrankung als nicht lebensbedrohlich eingestuft wird, kann sie aber darüber hinaus systemische Auswirkungen haben. So besteht eine bidirektionale Beziehung zwischen der Parodontitis und dem Diabetes mellitus. Ebenfalls gilt die Parodontitis als unabhängiger Risikofaktor für die Atherosklerose und deren klinischen Folgen im Bereich der cerebro- und kardiovaskulären Erkrankungen (Jepsen, Kebschull et al. 2011).

1.1.3 *Porphyromonas gingivalis*

Das gramnegative, anaerobe Bakterium *P.g.* wird als ein Hauptverursacher der Parodontitis angesehen und es sind verschiedene Geno- und Serotypen bekannt, die sich in ihrer Ausprägung der Virulenzfaktoren unterscheiden (Hajishengallis 2009; Brunner, Wittink et al. 2010). *P.g.* lässt sich bei bis zu 85% der parodontal Erkrankten intraoral nachweisen. Bei den Gesunden zeigt sich bereits eine Prävalenz von ca. 25% (Griffen, Becker et al. 1998; Yang, Huang et al. 2004; Kononen, Paju et al. 2007; Puig-Silla, Dasi-Fernandez et al. 2012), wobei bestimmte Genotypen aber auch eher vermehrt mit dem Vorkommen in dieser Gruppe assoziiert sind (Griffen, Lyons et al. 1999; Zhao, Wu et al. 2007; Fabrizi, Leon et al. 2013).

Die Übertragung zwischen den Wirten erfolgt mittels horizontaler und vertikaler Transmission (Greenstein and Lamster 1997; Van Winkelhoff and Boutaga 2005). Mit dem Speichel als Vektormedium gelangt *P.g.* in die Mundhöhle und nutzt unterschiedliche strukturelle Oberflächenmoleküle, um an komplementäre Membranbestandteile der Wirtszellen anzuhaften. Dabei stellen Fimbrien, Hämagglutinine und Gingipaine die dominanten Bindungssysteme auf der äußeren Bakterienwand dar (Lamont and Jenkinson 1998).

Fimbrien sind dünne, filamentöse Ausstülpungen der Zelloberfläche, die über Adhäsin-Proteine an homologe Rezeptoren von Speichelproteinen, extrazellulären Matrixbestandteilen und eukaryoten und bakteriellen Zellen adhärieren können

(Feng and Weinberg 2006). Zugleich besitzen sie aber auch eine hohe antigene Potenz und induzieren die Produktion von proinflammatorischen Cytokinen, wie z.B. IL-1β, IL-6 und TNF-α (Ogawa, Kusumoto et al. 1991; Miyauchi, Maekawa et al. 2012). Die Bedeutung der Fimbrien-Adhäsion zeigte sich in tierexperimentellen Untersuchungen, in denen Ratten mit einem Fimbrienprotein immunisiert wurden. Sie wiesen im Vergleich zu den Kontrolltieren einen signifikant geringeren Attachmentverlust nach Infektion mit *P.g.* auf (Evans, Klausen et al. 1992; Evans, Klausen et al. 1992).

Weitere wichtige Adhäsions- und Virulenzfaktoren sind die Hämagglutinine. Es konnten bisher fünf verschiedene Hämagglutinationsmoleküle auf der Bakterienoberfläche identifiziert werden, die die Adhäsion an Erythrozyten vermitteln und eine Hämagglutination verursachen (Okuda, Yamamoto et al. 1986).

Nach erfolgter Adhäsion an orale Wirtszellen ist das Bakterium auch fähig, aktiv in das Gewebe zu invadieren (Lamont, Oda et al. 1992). Dabei binden die Fimbrien an β1-Integrine der Wirtszelloberfläche, welche eine Umstrukturierung des Actin-Cytoskelettes auslöst und eine Internalisierung des Bakteriums ermöglicht (Yilmaz, Young et al. 2003; Zhang, Ju et al. 2013). Die körpereigne Immunantwort wird dabei zusätzlich soweit modifiziert, bzw. in der initialen Phase der Entzündung supprimiert, so dass eine ungestörte Kolonisation und Replikation von *P.g.* möglich ist (Hajishengallis 2009). Auf Ebene der zellulären Abwehr stört *P.g.* die Chemotaxis und damit die nachfolgende Invasion der neutrophilen Granulozyten. Dieser Prozess wird durch Hemmung der IL-8 Produktion der Saumepithelzellen und einer verminderten E-Selectin Expression der Endothelzellen nach Kontakt mit *P.g.*-Lipopolysaccharid gesteuert (Darveau, Cunningham et al. 1995; Darveau, Belton et al. 1998). Ebenfalls kann *P.g.* IL-12 hemmen und zerstören, so dass die mit ihm infizierten Wirtszellen nicht mehr durch aktivierte cytotoxische T-Zellen oder „Natural Killer Cells“ zerstört werden können (Hajishengallis, Shakhatreh et al. 2007). Gleichzeitig fördert das Bakterium auch das Überleben seiner Wirtszelle durch Hemmung der Apoptose (Nakhjiri, Park et al. 2001). Durch die Invasion in das Gewebe kann sich *P.g.* somit ungestört intrazellulär vermehren (Colombo, da Silva et al. 2007), ein großes Nährstoffreservoir erschließen und ist gleichzeitig vor den immunologischen Abwehrmechanismen des Wirtes geschützt (Lamont and Jenkinson 1998).

Warum zu einem späteren Zeitpunkt *P.g*. eher proinflammatorische Mechanismen aktiviert, konnte bisher nur hypothetisch betrachtet werden. Möglicherweise dient dabei die entzündungsbedingte Stimulation der Serumexsudation der Aufrechterhaltung der Nährstoffversorgung des pathogenen Biofilms (Hajishengallis 2009).

Ein weiterer obligater Wachstumsfaktor für *P.g.* ist Eisen. Dieses wird von *P.g.* als Hämin durch proteolytischen Abbau aus Hämoglobin, Myoglobin und Cytochrom C der befallen Wirtszellen und Erythrozyten gewonnen. Somit führt gerade die vermehrte Blutungsneigung im Rahmen einer Gingivitis und Parodontitis zu einer erhöhten subgingivalen Häminkonzentration und folglich zu optimalen Milieuverhältnissen für das Überleben von *P.g.*. Zudem kann das Membran-assoziierte Hämin Sauerstoff binden und eine anaerobe Atmosphäre aufrechterhalten (Lewis 2010).

Aufgrund seines asaccharolytischen Stoffwechsels benötigt das Bakterium Proteine zur Energiegewinnung. Die hierfür genutzten Proteasen von *P.g.*, die der Akquise von Peptiden und Aminosäuren dienen, sind gleichzeitig auch als Virulenzfaktoren bei der Immunmodulation, Gewebeinvasion und –destruktion von Bedeutung. Als Beispiel hierfür gelten die Gingipaine (Guo, Nguyen et al. 2010), die ca. 85% der gesamten proteolytischen Aktivität von *P.g.* ausmachen (Potempa, Pike et al. 1997). Basierend auf ihrer Substratspezifität können zwei Trypsin-ähnliche Cysteinproteasen (Arginin- und Lysin-Gingipain) unterschieden werden, die sezerniert oder membrangebunden vorliegen können. Neben der Proteolyse vermitteln sie aber auch die Adhäsion an Proteine gingivaler Epithelzellen und Fibroblasten (Chen, Nakayama et al. 2001) und aktivieren bestimmte Cytokine, MMPs und Makrophagenrezeptoren. Zusätzlich wird durch die Aktivierung des Kallikrein/ Kinin-System die Gefäßpermeabilität gesteigert und die Blutgerinnung beeinflusst. In Summation führen diese Prozesse zu einem Voranschreiten des Entzündungsprozesses, Gingivaschwellung mit vermehrter Blutungsneigung und weiterem parodontalen Attachmentverlust (Potempa, Banbula et al. 2000; Imamura 2003).

1.1.4 Therapie

Aufgrund der vorhandenen Gewebedestruktion ist nach heutigem Kenntnisstand eine komplette Ausheilung der Parodontitis und *restitutio ad integrum* nicht

möglich. Das primäre Ziel der Parodontitistherapie ist demnach die Progression der Erkrankung zu stoppen bzw. zu verlangsamen. Die konventionelle Therapie setzt dabei zunächst auf die mechanische Entfernung der supra- und subgingivalen harten und weichen Beläge. Dies führt zu einer Reduktion der parodontalen Infektion und Entzündung, sowie der zeitlich begrenzten quantitativen, und im geringen Umfang auch qualitativen Veränderung der subgingivalen Mikroflora (Bollen and Quirynen 1996; Haffajee, Cugini et al. 1997). Unterstützend finden hierbei antiseptisch wirksame, unspezifische Desinfizientien, wie Chlorhexidindigluconat oder ätherische Öle (Darby 2009), und antimikrobielle Pharmaka in strenger Indikationsstellung ihre Anwendung (Beikler, Karch et al. 2003; Page 2004). Je nach Topographie und Schweregrad der Erkrankung dienen anschließende resektive oder regenerative chirurgische Maßnahmen der Verbesserung der Zugangsmöglichkeiten in die Zahnfleischtaschen und demnach der Effizienz der zukünftigen Instrumentation. Die positive Veränderung der Plaquezusammensetzung ist jedoch, unabhängig von der vorangegangen Therapieart, nur von temporärer Dauer und *P.g.* spielt hierbei erneut eine Schlüsselrolle. Durch seine Anwesenheit verändert sich die Zusammensetzung und Menge an kommensalen Bakterien und stört nachfolgend die Homöostase zwischen dem Wirt und der dentalen Plaque (Darveau, Hajishengallis et al. 2012; Hajishengallis and Lamont 2012). Innerhalb weniger Wochen und Monate erfolgt die Rekolonisation der subgingivalen Zahnfleischtaschen und der erneute Shift zu einer mehr pathogenen Mikroflora (Petersilka, Ehmke et al. 2002; Quirynen, Vogels et al. 2005). Die anschließende Erhaltungstherapie mit der regelmäßigen Entfernung des zahnadhärenten Biofilms ist demnach essentiell und stellt einen entscheiden Faktor für die Prognose der Zähne dar (Axelsson and Lindhe 1981).
Trotz dieser therapeutischen Maßnahmen ist eine vollständige Eradikation der parodontopathogenen Erreger beim Erkrankten nicht möglich (Teles, Haffajee et al. 2006) und folglich kommt der Parodontitisprophylaxe bereits beim Gesunden eine entscheidende Rolle zu.

1.1.5 Prävention

Die derzeit angewandten zahnmedizinischen Maßnahmen beinhalten folgende Präventionsstrategien: eine Verbesserung der persönlichen Mundhygiene, Fluoridierungsmaßnahmen, zahngesunde Ernährung, Individualprophylaxe und

professionelle Zahnreinigungen. Global betrachtet haben diese Maßnahmen innerhalb der letzten 3 Jahrzehnte zu einer signifikanten Reduktion der Prävalenz kariöser Schäden in den Industrienationen geführt (WHO 2002; Ito, Hayashi et al. 2012). Auf nationaler Ebene konnte laut der vierten deutschen Mundgesundheitsstudie von 1997 bis 2005 ein Rückgang des DMFT von 16,7 auf 14,4 in der Gruppe der 35- bis 44-Jährigen erreicht werden.

Bei den Parodontalerkrankungen jedoch zeigt sich in der gleichen Altersgruppe der Erwachsenen und auch der Senioren eine deutliche Zunahme der Erkrankungen und Ausprägung des Schweregrades, siehe **Abb. 2**. Es wird vermutet, dass ein Grund für diese Negativentwicklung der positive Umstand sei, dass heute weniger Zähne bei Erwachsenen durch Karies verloren gingen und die erhaltenen Zähne mit zunehmendem Lebensalter ein steigendes Risiko für parodontale Erkrankungen bedeuten (Micheelis and Schiffner 2006).

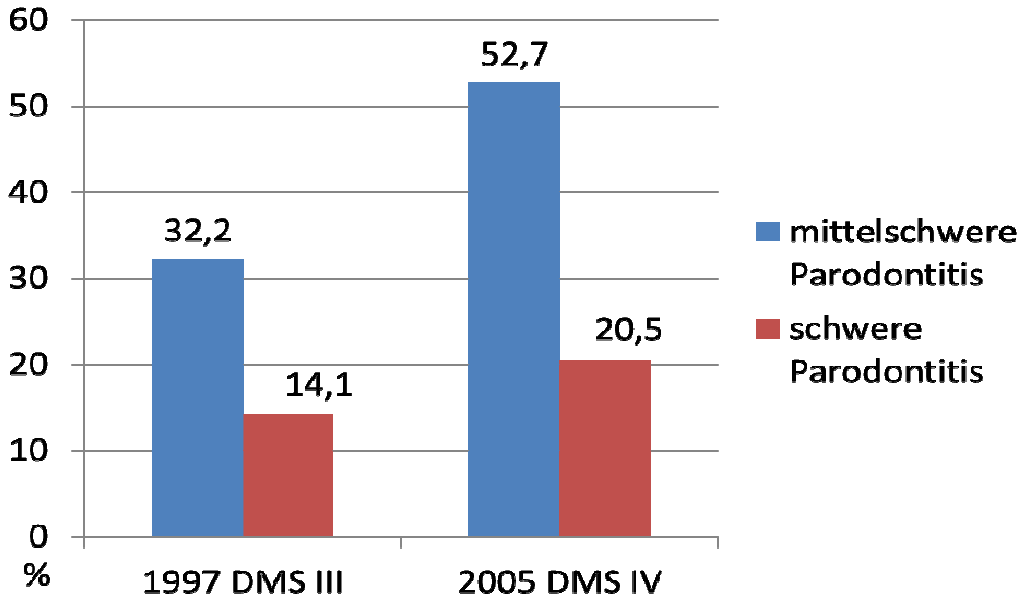

Abb. 2: Entwicklung der mittelschweren und schweren Parodontitis bei 35- bis 44-jährigen Erwachsenen von 1997 bis 2005, modifiziert nach (Micheelis and Schiffner 2006).

Diese Entwicklung zeigt aber folglich, dass die derzeit angewandten zahnmedizinischen Prophylaxekonzepte hinsichtlich der Parodontitis nicht ausreichend effizient sind. Unspezifische Maßnahmen wie Mundhygiene-instruktion und Zahnreinigungen erreichen lediglich eine quantitative Reduktion der Plaque. Sie führen weder zu einer Inhibition der intraoralen Kolonisation mit parodontopathogenen Keimen, noch zu deren gezielten Elimination. Somit sind

diese Maßnahmen nicht geeignet, die Kausal- respektive Infektionskette einer Gingivitis und folgenden Parodontitis wirksam zu unterbrechen (Sampson 2010; Lamont 2012).

Im Rahmen der Infektion mit *P.g.* und den Auswirkungen auf das Parodont stellt die initiale Adhäsion des Bakteriums ein ganz zentrales und frühes Element im Entzündungsgeschehen dar. Des Weiteren scheint *P.g.* auch eine Schlüsselstellung in der Verschiebung des normalen benignen oralen Mikrobioms in eine dysbiotische pathogene Mikroflora einzunehmen (Hajishengallis, Darveau et al. 2012). Daraus resultiert die Überlegung, dass ohne das Attachment des Bakteriums an die Wirtszelle auch alle weiteren negativen Effekte auf orale Mikrobiom und das Gewebe unterbunden werden. Daher erscheint ein Prophylaxekonzept mit dem Ziel der Adhäsionshemmung oder auch Eradikation des parodontopathogenen Erregers *P.g.* bereits beim Gesunden als im eigentlichen Sinn höchstspezifisch und primärpräventiv.

1.2 Zukünftige Präventionsstrategien gegen *Porphyromonas gingivalis*

1.2.1 Impfung

Infektionen werden innerhalb der klassischen Behandlungsstrategien immer erst dann behandelt, wenn sie sich manifestiert haben und für den Organismus belastend werden. Einzig die aktive Immunisierung gegen eine bestimmte Erkrankung setzt auf Prophylaxe.

Bisher wurden eine Vielzahl an *P.g.* spezifischen Antigenen als Impfstoff im Tiermodell untersucht. In den ersten Experimenten wurden attenuierte, d.h. abgeschwächte oder inaktivierte ganze Bakterienzellen benutzt (Chen, Neiders et al. 1987; Okuda, Kato et al. 1988; Genco, Kapczynski et al. 1992). Aufgrund von Kreuzreaktivität und der hohen Varianz an Serotypen erwies sich dieser Ansatz aber als nicht erfolgreich. Später wurde der Fokus auf antigen-wirkende Oberflächenstrukturen von *P.g.* gelegt. Dabei wurden im Tierversuch Impfstoffe mit strukturellen Anteilen der Fimbrien (Evans, Klausen et al. 1992; Takahashi, Kumada et al. 2007), Gingipainen (O'Brien-Simpson, Paolini et al. 2000; Gibson and Genco 2001) oder Hämagglutininen (Katz, Black et al. 1999; Yang, Martin et al. 2002; Shibata, Hosogi et al. 2005) getestet. Die Immunantwort auf diese *P.g.*

spezifischen Antigene resultierte in einer Induktion der spezifischen Ig A und Ig G Produktion und einer Reduktion des *P.g.* induzierten alveolären Knochenverlustes. Neuere Versuchsansätze machen sich nun die DNA-Vakzination zu Nutze (Yu, Xu et al. 2011; Fan, Wang et al. 2012). Hierbei wird ein Plasmid, das das antigene Protein codierende Gen enthält, in die Wirtszellen eingeschleust. Nach der Proteinbiosynthese wird das Antigen folgend auf der Zelloberfläche exprimiert und die Immunantwort ausgelöst. Nichtsdestotrotz fehlt aber bisher der Nachweis eines kompletten Impfschutzes gegen *P.g.* und im Bereich der Parodontitisprävention sind aktuell noch keine wirksamen Immunisierungsstrategien auf den Menschen übertragbar (Dhingra and Vandana 2010; Jong and van der Reijden 2010).

1.2.2 Antibiotika

Aufgrund der weitverbreiteten Anwendung von Antibiotika ist die Zunahme an resistenten Keimen ein bedrohliches und ernstzunehmendes medizinisches Problem (Hawkey 1998; Levin and Rozen 2006). Im Bereich der kommensalen und pathogenen oralen Mikroflora konnte auch bereits ein Anstieg der Antibiotika-resistenten Bakterienstämme nachgewiesen werden (Walker 1996; Ardila, Granada et al. 2010). Demnach stellt eine prophylaktische Einnahme von Antibiotika, auch aufgrund eventuell auftretender Nebenwirkungen, keine Therapieoption zur Bekämpfung parodontopathogener Keime dar.

1.2.3 Probiotika

Per definitionem sind Probiotika lebende Mikroorganismen, die einen gesundheitlichen Benefit für den Wirt darstellen, wenn sie in einer adäquaten Menge verabreicht werden (FAO/WHO-Working-Group 2002). Ihre Wirkung kann sich entweder in der Produktion von antimikrobiellen Substanzen gegen pathogene Keime, durch kompetitives Wachstum oder durch die Modulation des Immunsystems zeigen (de Vrese and Schrezenmeir 2008).

Gerade den *Lactobacillus*-Spezies konnte im Rahmen des experimentellen Probiotikaeinsatzes ein mikrobiologischer und im geringen Umfang auch klinischer Effekt nachgewiesen werden (Gupta 2011; Teughels, Loozen et al. 2011; Sugano 2012; Samot and Badet 2013). Durch die orale Gabe von *Lactobacillus salivarius* in Tablettenform konnte die Anzahl an parodontopathogenen Keimen bei

gesunden Probanden signifikant reduziert werden (Mayanagi, Kimura et al. 2009). Auch bei Gingivitispatienten wurde durch die 4-wöchige Anwendung von *Lactobacillus reuteri* Tabletten eine tendenziell signifikant verminderte Anzahl von *P.g.* in subgingivalen Plaqueproben nachgewiesen (Iniesta, Herrera et al. 2012) und eine Verbesserung klinischer Parameter erreicht (Krasse, Carlsson et al. 2006). Ebenfalls hat die orale Anwendung von *Lactobacillus reuteri* Lutschtabletten als Adjuvanz zum supra- und subgingivalen Debridement zu einem Attachmentgewinn und einer signifikanten Reduktion der Taschensondierungstiefen und parodontopathogenen Keime bei Parodontitispatienten geführt. Diese Behandlung erbrachte einen Vorteil im Gegensatz zum konventionellen Debridement allein (Vivekananda, Vandana et al. 2010). Leider sind diese Effekte auf den Zeitraum der Probiotika-Einnahme limitiert und es fehlen zurzeit noch Langzeitstudien mit großen Studienpopulationen. Dennoch scheinen Probiotika als Biotherapeutikum für die orale Gesundheit vielversprechend zu sein (Saha, Tomaro-Duchesneau et al. 2012).

1.2.4 Replacement

Das Verdrängen eines pathogenen Bakteriums durch einen natürlich vorkommenden oder *in vitro* gezüchteten apathogenen Keim der residualen Mikroflora wird als Replacement-Therapie bezeichnet (Hillman and Socransky 1987). So können einige *Actinomyces* und *Streptococcus* Spezies eher einer gesunden oralen Mikroflora zugeordnet werden (Roberts and Darveau 2002).

In vitro Untersuchungen erbrachten den Nachweis, dass die Adhäsion und Kolonisation von parodontopathogenen Keimen durch den Einsatz verschiedener antagonistischer Bakterienstämme reduziert werden kann (Teughels, Kinder Haake et al. 2007; Van Hoogmoed, Geertsema-Doornbusch et al. 2008; van Essche, Loozen et al. 2012). Im Tiermodell konnte das Konzept der Replacement-Therapie ebenfalls bewiesen werden und führte zu der positiven Entwicklung einer gesunden oralen Mikroflora. Dabei kam es infolge der wiederholten Anwendung einer Kombination aus *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis* und *Streptococcus sanguinis* bei Hunden mit chirurgisch geschaffenen Parodontaldefekten zu einer verzögerten subgingivalen Rekolonisation mit parodontalpathogenen Keimen, einer verringerten Entzündung der Gingiva und

einer erhöhten Dichte des Alveolarknochens (Teughels, Newman et al. 2007; Nackaerts, Jacobs et al. 2008). Dieses Verfahren bietet damit einen vielversprechenden Ansatz zur Modifikation des oralen Mikrobioms; bisher fehlen jedoch klinische Studien.

1.2.5 Antiadhäsiva

Die Interaktion der auf der mikrobiellen Zelloberfläche befindlichen Adhäsine, meistens Lectine, mit spezifischen homologen Rezeptormolekülen des Wirtsgewebes, wie Saccharide oder prolinreiche Proteine, stellt den ersten kritischen Schritt in der bakteriellen Infektion dar, siehe **Abb. 3.1** (Gibbons 1989). Ein antiadhäsiv wirkendes Therapieverfahren versucht folglich die primäre Adhäsion des Pathogens an den Wirt und die folgende Kolonisation zu unterbinden, um so den Ausbruch der Erkrankung zu verhindern (Kelly and Younson 2000; Bavington and Page 2005).

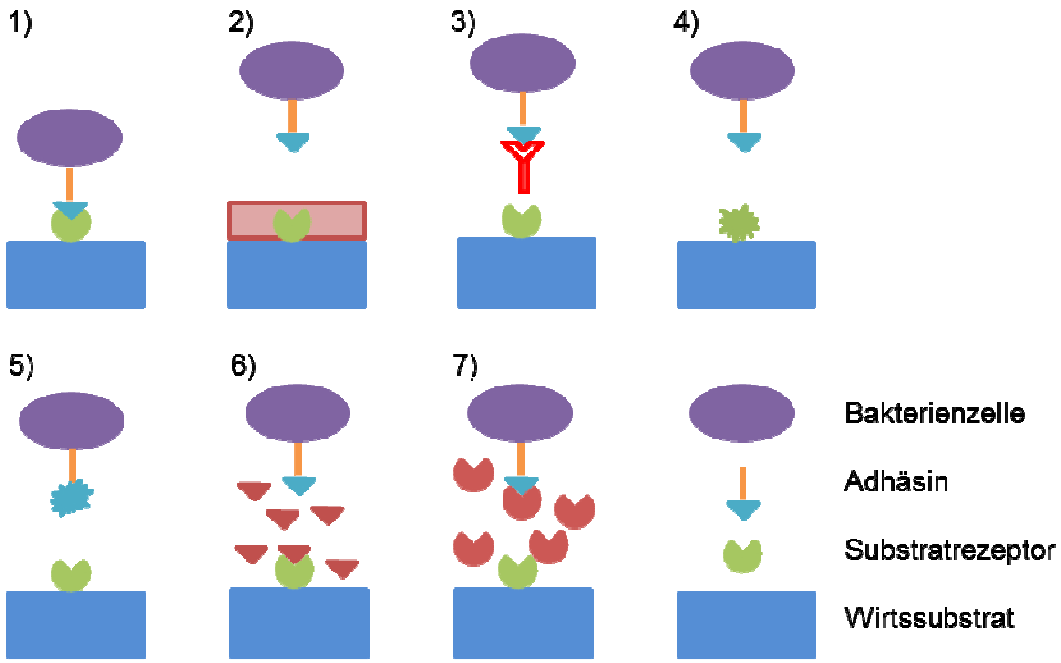

Abb. 3: Strategien zur Inhibition der bakteriellen Adhäsion. 1) Bakterienzelle adhäriert an das Zielsubstrat der Wirtszelle. 2) Versiegelung der Substratoberfläche. 3) Applikation von monoklonalen Antiadhäsin-Antikörpern. 4) Inhibition der Rezeptor-Glykosilierung. 5) Inhibition der Adhäsin-Biosynthese. 6) Anwendung von kompetitiven Adhäsinanaloga. 7) Anwendung von kompetitiven Rezeptoranaloga, modifiziert nach (Signoretto, Canepari et al. 2012).

Prinzipiell gibt es verschiedene Ansatzpunkte zur Adhäsions-Inhibition:

Das Beschichten bzw. Versiegeln der Substratoberfläche (**Abb. 3.2**) findet seine experimentelle Anwendung z.B. bei Füllungsmaterialien, Implantaten oder sich nicht abschilfernden Geweben, z.B. dem Zahnschmelz (Busscher, Rinastiti et al. 2010; Hannig and Hannig 2012).

Es besteht die Möglichkeit der topische Applikation von monoklonalen Antiadhäsin-Antikörpern (**Abb. 3.3**), die an Epitope von *P.g.*-Hämagglutininen binden. Hierbei wurden bei Parodontitispatienten im Rahmen einer passiven Immunisierung bestimmte Sites bis zu 9 Monate lang signifikant geringer durch *P.g.* rekolonisiert (Booth, Ashley et al. 1996). Jedoch kann kein immunologischer Memory-Effekt, wie bei einer aktiven Immunisierung, erzielt werden und eine regelmäßige Applikation wäre notwendig.

Die Hemmung der Adhäsin-Biosynthese oder Rezeptor-Glykolysierung (**Abb. 3.4** und **3.5**), bzw. die Anwendung von kompetitiven Adhäsin- und Rezeptoranaloga (**Abb. 3.6** und **3.7**) konnte bisher für *P.g.* noch nicht beschrieben werden. Generell stellen das Vorkommen von multiplen bakteriellen Adhäsinen und die Variabilität der an den Rezeptor bindenden Adhäsindomänen noch ein Hindernis zur Entwicklung antiadhäsiver Substanzen dar. Des Weiteren fehlen bisher hochqualitative Isolations- und Produktionsverfahren sowie angemessene Applikationsmöglichkeiten (Signoretto, Canepari et al. 2012).

1.2.6 Phytotherapeutika

Auch in der Zahnmedizin besteht ein gestiegenes Interesse an natürlichen biologisch aktiven Substanzen aus Pflanzen mit einem therapeutischen Potential (Groppo, Bergamaschi Cde et al. 2008). Im besonderen Fokus steht dabei die in der Pflanzenwelt weit verbreitete Gruppe der Polyphenole aufgrund ihrer antioxidativen, antiinflammatorischen und antiadhäsiven Wirkung (de la Iglesia, Milagro et al. 2010; Govindaraj, Emmadi et al. 2011). Diese Sekundärstoffwechselprodukte sind aromatische Kohlenstoffverbindungen mit zwei oder mehr gebundenen Hydroxylgruppen, wobei ihre Vielfältigkeit und biologische Aktivität durch die Anzahl der aromatischen Ringe und die Anzahl und Position der Hydroxylgruppen bestimmt werden (Varoni, Lodi et al. 2012).

Den Polyphenolen aus grünem Tee (*Camellia sinensis*) konnte nachgewiesen werden, dass sie die Adhäsion von *P.g.* an bukkalen Epithelzellen verhindern. Es wird vermutet, dass sie an die Fimbrien von *P.g.* binden und demnach die

Adhäsion inhibieren (Sakanaka, Aizawa et al. 1996). Des Weiteren zeigten die Tee-Catechine eine Hemmung der proteolytischen Aktivität von Arginin-Gingipain (Okamoto, Sugimoto et al. 2004) und eine Reduktion der Virulenzfaktorexpression von *P.g.* (Sakanaka and Okada 2004). Ebenfalls konnte im Tiermodell eine Suppression der parodontalen Entzündung durch Anwendung einer grünen Tee-haltigen Zahncreme demonstriert werden (Maruyama, Tomofuji et al. 2011). Auch die Menge an getrunkenem grünem Tee steht in einem moderaten Zusammenhang mit der parodontalen Gesundheit (Kushiyama, Shimazaki et al. 2009).

Myrothamnus flabellifolia ist eine im südlichen Afrika wachsende Strauchart mit hohen Anteil an oligomeren galloylierten Proanthocyanidinen (Anke, Petereit et al. 2008). Extrakte dieser Pflanze inhibierten unter *in vitro* Bedingungen die bakterielle Adhäsion von *P.g.* durch Beeinflussung des Arginin-Gingipain und Hämagglutinin Aktivität. Die Vorbehandlung von humanen Zelllinien mit diesem pflanzlichen Extrakt erwirkte eine reduzierte Genexpression für IL-1β, IL-8 und TNF-α und verminderte die IL-6 Ausschüttung nach Kontakt mit *P.g.* (Lohr, Beikler et al. 2011). Zur Überprüfung dieses cytoprotektiven Effektes fehlen aber bisher klinische Studien.

Für Extrakte der Moosbeere (Cranberry, *Vaccinium macrocarpon),* einer weiteren proanthocyanidinreichen Pflanze, konnten eine vergleichbare antiadhäsive Wirkung gegenüber *P.g.* (Labrecque, Bodet et al. 2006; Polak, Nadaf et al. 2012) und ein Dosis-abhängiger inhibitorischer Effekt auf die Gingipain-Aktivität nachgewiesen werden (Yamanaka, Kouchi et al. 2007). Ebenfalls wird die Coaggregation von Plaquebakterien beeinflusst (Weiss, Lev-Dor et al. 1998). Im *in vitro* Nachweis besitzen diese Extrakte anti-inflammatorische und cytoprotektive Eigenschaften durch Hemmung der Cytokin- und MMP-Produktion der Mukosa- und Immunzellen (Bodet, Chandad et al. 2007; La, Howell et al. 2010; Feldman and Grenier 2012; Tipton, Babu et al. 2012; Tipton, Cho et al. 2013). Die klinische Anwendung zeigte bisher jedoch keine Beeinflussung der Plaque- und Gingivaindices (Weiss, Lev-Dor et al. 2002).

Ferner wurde festgestellt, dass eine Granatapfel-haltigen Lösung (*Punica granatum* L.) eine antiadhäsive Wirkung gegenüber *S.mutans*, *S.mitis* und *C.albicans* (Vasconcelos, Sampaio et al. 2006) und einen inhibitorischen Effekt auf *P.g.* ausübt. In der klinischen Kurzzeitanwendung zeigte diese Tannin- und

Polyphenolreiche Pflanze eine Plaque-hemmende Wirkung (Bhadbhade, Acharya et al. 2011).

Es wird vermutet, dass diese aktiven pflanzlichen Substanzen die bakterielle Oberfläche modifizieren, sowie den Substratrezeptor maskieren. Der präzise Mechanismus ist bisher jedoch noch ungeklärt. Ebenfalls existieren nur sehr vereinzelt *in vivo* Studien auf klinischem Niveau. Da jedoch die Entwicklung wirksamer antiadhäsiver Verbindungen, basierend auf pflanzlichen Extrakten oder pflanzlichen Naturstoffen, eine wissenschaftliche Innovation im Bereich der Parodontitisprophylaxe darstellt, sollte diese durch klinische Studien unterstützt und die Effektivität und Sicherheit dieser Pflanzenstoffe untersuchten werden.

1.3 *Rumex acetosa* L.

Rumex acetosa L. (RA), der in ganz Europa endemische Wiesen-Sauerampfer aus der Familie der Knöterichgewächse (Polygonaceae), wird seit Jahrhunderten als Lebensmittel und traditionelle Heilpflanze genutzt. Aufgrund seines hohen Gerbstoffgehaltes und dem damit verbundenen adstringierenden Effekt wurde er insbesondere als Mittel gegen Hauterkrankungen und leichte Diarrhoe eingesetzt (Madaus 1938; Geßner 1953). Im Rahmen der modernen Phytotherapie besteht bereits eine Vollzulassung nach dem Arzneimittelgesetz für ein Kombinationspräparat, das neben Sauerampfer noch weitere pflanzliche Extrakte beinhaltet und als freiverkäufliches Erkältungsmittel „Sinupret“ weltweit vermarktet wird. Das Produkt ist nach Angaben des Unternehmens Bionorica das meist verkaufte Phytotherapeutikum in Deutschland und findet sein Anwendungsgebiet in der Therapie der akuten und chronischen Sinusitis (Guo, Canter et al. 2006; Bionorica 2010).

Der Gesamtgerbstoffgehalt der Pflanze beträgt 7- 15%, wobei diese der Gruppe der kondensierten Proanthocyanidinen (= Catechingerbstoffe) zuzuordnen sind (Hegnauer 1962- 2001). Dieses sind Biopolymere, ebenfalls aus der Gruppe der Polyphenole, mit Flavan-3-Olen (= Catechin) als Monomer. Der Sauerampfer enthält dabei ein komplexes Gemisch aus verschiedenen Flavan-3-olen, dimeren, tri-, tetra- und polymeren Proanthocyanidinen (Bicker, Petereit et al. 2009).

Allen diesen Proanthocyanidinen gemeinsam ist ihre Eigenschaft, unlösliche Verbindungen mit Proteinen einzugehen, welches den adstringierenden, Eiweiß ausfällenden Effekt beschreibt (Hänsel and Hölzl 1996).

Löhr (2010) untersuchte das antiadhäsive und cytoprotektive Wirkpotenzial eines Aceton-Wasser-Extraktes aus RA gegenüber *P.g.* im *in-vitro*-Modell. Zunächst wurden durch einen Zellviabilitäts-Test geeignete Bedingungen ermittelt. Die eingesetzten RA-Konzentrationen bis max. 0,1 mg/ml in Bezug auf die angewandten Inkubationszeiträume von < 6 Stunden waren nicht toxisch gegen *P.g.* und die Zielzellen, wirkten dennoch aber antiadhäsiv. Als aktiver antiadhäsiver Wirkstoff konnten die Proanthocyanidine durch Bindung an *P.g.* mittels Anthocyanidin-Reaktion in der Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie identifiziert werden. Dem Extrakt wurde ebenfalls eine konzentrationsabhängige Beeinflussung der Hämagglutination nachgewiesen, wobei eine Sättigung der für die Erythrozytenadhäsion relevanten Bindungsstellen mit einer Konzentration von 0,1 bzw. 0,5 mg/ml erreicht werden konnte. Zusätzlich konnte im durchflußcytometrischen Antiadhäsionsassay eine konzentrationsabhängige Inhibition der Adhäsion von *P.g.* gezeigt werden. Bei einer minimalen Konzentration von 0,1 mg/ml hemmte RA die Adhäsion von *P.g.* an KB-Zellen noch signifikant um 20%. Des Weiteren konnte mit Hilfe des Proteaseassays eine signifikante konzentrations- und zeitabhängige Reduktion der enzymatischen Gingipainaktivität durch Inkubation von *P.g.* mit dem RA-Extrakt bewirkt werden. Hierbei war der Einfluss auf das Arginin-Gingipain mit einer maximalen Reduktion von 80% stärker als der auf die Lysin-spezifische Aktivität mit max. 65%. Somit war auch der Nachweis erbracht worden, dass pflanzliche Extrakte mit den Proteinen der Bakterienoberfläche interagieren. Abschließend konnte gezeigt werden, dass mit RA vorbehandelte Zellen signifikant geringere Mengen IL-6 freisetzen, was als cytoprotektive Wirkung anzusehen ist (Löhr 2010).

Die Ergebnisse dieser *in vitro* Versuche führten zu einer Patentanmeldung (Hensel A., Löhr G, Beikler T.: Verwendung von Proanthocyanidinen zur Herstellung einer antiadhäsiven Zubereitung. Veröffentlichung 16.01.2008; Deutsche Patentanmeldung, DE 102009027696.3, Anmeldedatum 14.09.2009).

1.4 Zielsetzung und Arbeitshypothese

Aufgrund der *in vitro* nachgewiesenen antiadhäsiven Wirkung von RA gegenüber *P.g.* und cytoprotektiven Eigenschaften wurde im Institut für pharmazeutische Biologie und Phytochemie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster eine Mundspüllösung aus 0,8%igen RA-Extrakt (RA1) entwickelt. Diese Pilotstudie hat das Ziel, die Effektivität und Sicherheit dieses pflanzlichen Extraktes *in vivo* zu überprüfen.

Die vorliegende Untersuchung wird placebokontrolliert, randomisiert und doppelblind an gesunden, *P.g.* positiven Probanden durchgeführt, um das Potential von RA zu erfassen. In der primären Fragestellung soll untersucht werden, inwiefern die Anwendung dieser Mundspüllösung in Kombination mit konventionellen Prophylaxemaßnahmen zu einer signifikanten Reduktion der intraoralen Prävalenz von *P.g.* führt. Die klinische Relevanz soll anhand der Dokumentation von Plaque- und Blutungsindices überprüft werden. Sekundär soll kontrolliert werden, ob der Einsatz dieses pflanzlichen Extraktes zu einem intraoralen Prävalenzanstieg folgender oralpathogener Mikroorganismen führt: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Treponema denticola, Tannerella forsythia, Prevotella nigrescens, Prevotella intermedia, Eikenella corrodens, Streptococcus mutans* und *Candida albicans*. Ebenfalls soll nachgeprüft werden, inwiefern *Streptococcus sanguinis, Streptococcus mitis, Veillonella parvula* und *Actinomyces viscosus*, Bakterien der kommensalen Mundflora, negativ beeinträchtigt werden. Die Überprüfung der möglichen Cytotoxizität der Mundspüllösung erfolgt in Kooperation mit dem Institut für Cytopathologie des Universitätsklinikums Düsseldorf.

Folgende Arbeitshypothesen werden dieser Arbeit zugrunde gelegt:

Die intraorale Anwendung von RA1 für 7 Tage

1. führt zur Reduktion der Prävalenz von *P.g.*
2. hat keinen negativen Einfluss auf die qualitative Zusammensetzung der supragingivalen Mikroflora
3. reduziert die Plaque- und Blutungsindices
4. führt zu keinen cytopathologischen Veränderungen der Alveolarmukosa

2 Material und Methode

2.1 Studiendesign

Diese klinische Pilotstudie wurde randomisiert, placebokontrolliert und unter Doppelverblindung durchgeführt.

Die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf erteilte unter der Studiennummer 3786 hierfür ihr positives Votum und der vorgelegte Prüfplan wurde am 16.03.2012 genehmigt.

2.2 Probanden

Für die Fallzahlbestimmung wurde eine Poweranalyse durchgeführt. Da unbekannt war, welcher quantitative Unterschied in der P.g. Prävalenz zu erwarten war, wurde zunächst von einer dichotomen Verteilung ausgegangen. Um einen 60%-igen Unterschied in der *P.g.* Prävalenz mit einer power von 80% und einem $p \leq 0{,}05$ festzustellen, wurde eine Gruppengröße von jeweils 15 Probanden in der Verum- und Placebogruppe benötigt. Mit einer einkalkulierten Dropout-Rate von 25% musste demnach eine Gesamtstudienpopulation von mindestens 40 Personen generiert werden.

Die Probanden wurden durch Aushänge auf dem Gelände des Universitätsklinikums Düsseldorf und der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, sowie mündlich aus dem Patientenkollektiv der Poliklinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Endodontologie, Universitätsklinikum Düsseldorf, rekrutiert.

Vor dem ersten Screening wurden die Probanden in mündlicher und schriftlicher Form über den Studienablauf, wissenschaftlichen Nutzen und mögliche Risiken und Nebenwirkungen aufgeklärt und ihr schriftliches Einverständnis wurde eingeholt. Insgesamt wurden 249 Probanden, die den festgelegten Ein- und Ausschlusskriterien entsprachen, untersucht. Anhand der molekularbiologischen Analyse der Plaqueproben (siehe Abschnitt 2.6) konnten 42 *P.g.* positive Personen in die Studie eingeschlossen werden.

2.2.1 Einschlusskriterien

- älter als 18 Jahre
- parodontal- und systemisch gesunde Probanden
- Parodontaler Screening Index (PSI) ≤ 2

Der PSI stellt ein Testverfahren zur Früherkennung von Parodontitiden dar. Mittels einer Parodontalsonde (PCPUNC15, Hu-Friedy, Tuttlingen, Deutschland) wurden die Tiefe der Zahnfleischtasche (ST), die Blutungsneigung der Gingiva, und das Vorhandensein von Zahnstein untersucht und nach folgenden Schweregraden eingeteilt:

Code 0	**Code 1**	**Code 2**	**Code 3**	**Code 4**
ST ≤ 3,5mm	ST ≤ 3,5mm	ST ≤ 3,5mm	ST ≥ 3,5mm und ≤ 5,5mm	ST ≥ 5,5mm
keine Blutung	Blutung auf Sondierung	Blutung auf Sondierung	Blutung auf Sondierung möglich	Blutung auf Sondierung möglich
kein Zahnstein	kein Zahnstein	Zahnstein	Zahnstein möglich	Zahnstein möglich
keine defekten Füllungs-ränder	keine defekten Füllungs-ränder	defekte Füllungs-ränder	defekte Füllungs-ränder möglich	defekte Füllungs-ränder möglich

Tabelle 1: Einteilung Parodontaler Screening Index, modifiziert nach (Jepsen and Meyle 2000)

Code 0 bedeutet gesund, Code 1 und 2 deuten auf eine Gingivitis hin und Code 3 und 4 auf eine Parodontitis (Jepsen and Meyle 2000).

2.2.2 Ausschlusskriterien

Personen, die entmündigt sind oder bei denen berechtigte Zweifel an der Einsichts- oder Geschäftsfähigkeit bestehen, wurden von der Teilnahme an dieser Studie ausgeschlossen. Ebenfalls ausgeschlossen wurden folgende Probanden:

- unter 18 Jahren
- mit Endokarditisrisikoerkrankungen oder anderen Erkrankungen/ Zuständen, die eine Antibiotikaprophylaxe notwendig machen
- mit Antibiotikaeinnahme bis zu 6 Monate vor der Untersuchung
- mit jeder topischen und systemischen Medikation, die potenziell Einfluss auf immunologische Parameter haben kann
- jeder Erkrankung, bei der oder bei deren Verlauf und/ oder durch deren

Therapie potentiell Störungen der Immunantwort zu erwarten oder zu vermuten sind

- Allergie gegen RA
- Schwangerschaft und Stillzeit
- bestehende Mundschleimhauterkrankungen
- PSI ≥3.

2.2.3 Abbruchkriterien

Sofortige Abbruchkriterien im Studienverlauf waren:

- allergische Reaktion auf Bestandteile der Mundspüllösung
- starke Erosion der Mundschleimhaut
- Schleimhautreizungen und/ oder Blutungen.

2.2.4 Komplikationen und Risiken durch die Untersuchungsmethoden

Die Probanden unterlagen den Risiken der Routinebehandlung einer professionellen Zahnreinigung. Die zum Einsatz kommenden Verfahren und Probenentnahmetechniken waren nicht-invasiv und beinhalteten nach derzeitigem Kenntnisstand keine zusätzlichen Risiken für die Teilnehmer. Darüber hinaus wurde jeder Proband über die in Kapitel 2.3.3 aufgeführten Risiken der Anwendung der beiden Mundspüllösungen aufgeklärt.

2.3 Mundspüllösung

2.3.1 Rezeptur Verum

Für diese klinische Pilotstudie wurde eine Mundspüllösung mit RA1 geprüft. Die Herstellung des Extraktes RA1 erfolgt aus Sauerampferkraut (Schnittware) mittels Aceton-Wasser (7:3, w/w). Die Zusammensetzung der Mundspüllösung wurde im Institut für pharmazeutische Biologie und Phytochemie der Westfälische Wilhelms-Universität Münster entwickelt (siehe **Tabelle 2**). Die Herstellung wurde unter Apothekenbedingungen in einer öffentlichen Apotheke im Defekturmaßstab und unter Verwendung von Inhaltsstoffen durchgeführt, deren Qualitätsnorm durch das Europäische Arzneibuch vorgegeben ist.

Inhaltsstoff	Spezifikation	Massenteile	Funktion
RA1	Eigene Prüfung	0,8	Wirkstoff
Calcium-L-ascorbat	Ph. Eur. 6.0	0,1	Stabilisator
Ethanol 96%	Ph. Eur.	6,4	Lösungsvermittler
Glycerinum 85%	Ph. Eur. 6.0	15	Lösungsvermittler
Kaliumsorbat	Ph. Eur. 6.0	0,47	Konservans
Zitronensäure, wasserfrei	Ph. Eur. 6.0	0,014	pH-Stabilisator
Pfefferminz-Aroma	Symrise AG, Holzminden, Deutschland	0,2	Aroma
Wasser, steril, pyrogenfrei	B. Braun AG, Melsungen, Deutschland, über Klinikum Münster	ad 100	Lösungsmittel

Tabelle 2: Zusammensetzung Mundspüllösung Verum

Die Abfüllung erfolgte in 200 ml Medizinal-Braunglasflaschen, hydrolytische Klasse III (Aponorm) mit 230 ml Füllmenge, Verschluss PP-Drehverschluss, rot eingefärbt, eingesetzter Gießring PE natur (siehe **Abb. 4**). Das Primärpackmittel ist mikrobiologisch geprüft worden und entsprach nach Zertifikat des Lieferanten den mikrobiologischen Anforderungen des Europäischen Arzneibuches.
Die Lösung wurde durch den Probanden mittels eines Einnahmeglases, 30 ml Kunststoff mit Deckel, abgemessen und in den Mund appliziert.

2.3.2 Rezeptur Placebo

Die Verarbeitung zur Darreichungsform Mundspüllösung Placebo erfolgte ebenfalls unter Apothekenbedingungen gemäß folgender Rezeptur:

Inhaltsstoff	Spezifikation/ Firma	Massenteile	Funktion
Calcium-L-ascorbat	Ph. Eur. 6.0	0,1	Stabilisator
Ethanol 96%	Ph. Eur.	6,4	Lösungsvermittler
Glycerinum 85%	Ph. Eur. 6.0	15	Lösungsvermittler
Kaliumsorbat	Ph. Eur. 6.0	0,47	Konservans
Zitronensäure, wasserfrei	Ph. Eur. 6.0	0,045	pH-Stabilisator
Pfefferminz-Aroma	Symrise AG, Holzminden Deutschland,	0,2	Aroma

Halbbitter-Orangen Aroma	Symrise AG, Holzminden, Deutschland	0,25	Aroma
Symcolor Zuckercouleur EBC30500	Symrise AG, Holzminden, Deutschland	0,1	Zugelassener Lebensmittelfarbstoff E 150 C
Wasser, steril, pyrogenfrei	B. Braun AG, Melsungen, Deutschland, über Klinikum Münster	ad 100	Lösungsmittel

Tabelle 3: Zusammensetzung Mundspüllösung Placebo

Abb. 4: Mundspüllösung SA-1-41 (Verum), Mundspüllösung SA-1-42 (Placebo), skalierter Einnahmebecher

2.3.3 Unerwünschte Nebenwirkungen

Unter Umständen war eine allergische Reaktion auf RA oder den weiteren Inhaltstoffen der Verum- und Placebolösung zu erwarten. Auf Grund der gelb-bräunlichen Farbe von RA1 und der Adstringenz der in RA enthaltenen Gerbstoffe war eine Verfärbung der Mundschleimhaut und des Zahnschmelzes denkbar.

Dieses wurde in Analogie zu Verfärbungen gesehen, die z.B. auch nach Genuss von Gerbstoff-haltigen Lebensmitteln (z.B. Schwarztee, Rotwein) möglich und komplett reversibel sind.

2.4 Randomisierung

Die Flaschen waren fortlaufend nummeriert SA-1-(1 bis 42) und mit folgendem Label versehen worden:

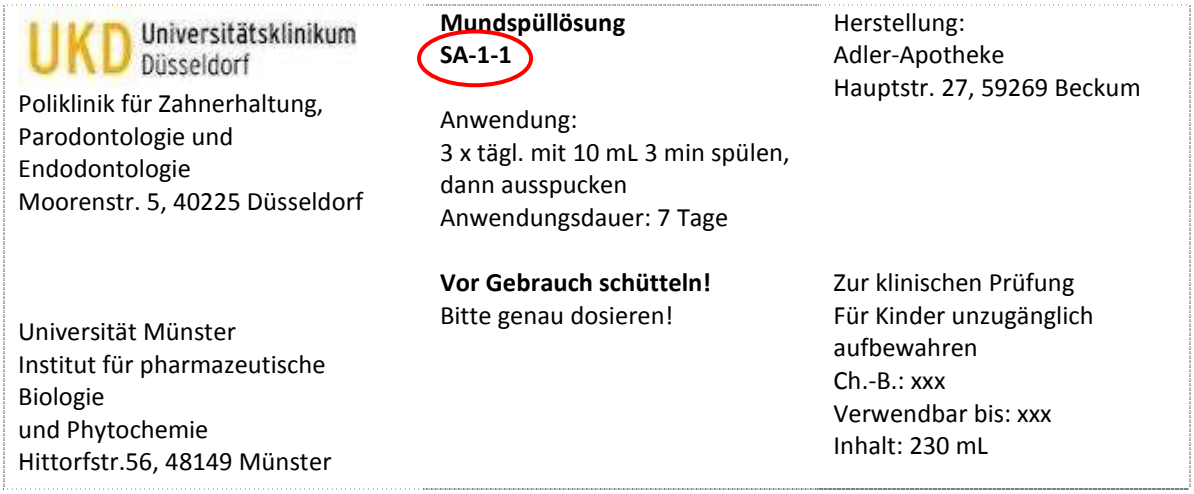

Abb. 5: Etikett Verum/ Placebo Flasche mit fortlaufender Nummerierung SA-1-1 bis SA-1-42.

Es erfolgte keine Stratifizierung der Probanden nach Alter, Geschlecht, Raucherstatus, Zahnzahl oder Mundhygienewerten. Die Mundspüllösung wurde zufällig nach aufsteigender Reihenfolge dem Datum des ersten Behandlungstermins entsprechend an die Probanden ausgeteilt. Die Zuordnung Verum/ Placebo zur Flaschennummerierung ist durch Mitarbeiter des Institutes für pharmazeutische Biologie und Phytochemie der Westfälische Wilhelms-Universität Münster erfolgt und war von außen nicht ersichtlich. Folglich waren der Prüfarzt SAF und die Probanden verblindet. Erst nach Beendigung der klinischen und mikrobiologischen Untersuchungen wurde zur Bearbeitung der Prüfergebnisse das Randomisierungsschema entschlüsselt.

2.5 Studienablauf

Beim Screening (V1) wurden Plaqueproben von 6 supragingivalen Stellen (jeweils 1 Zahn pro Sextant) mittels steriler Handinstrumente (Scaler 7835, Storz am Mark GmbH, Emmingen-Liptingen, Deutschland) entnommen und auf einen sterilen Watteträger (PeHa 470015/1, Hartmann AG, Heidenheim, Deutschland)

übertragen. Von den Wangenschleimhäuten, Gaumen, Mundboden und Zungenrücken wurde ebenfalls mit einem sterilen Watteträger ein Abstrich entnommen. Die Plaque-besetzen Enden der Watteträger wurden in ein 1,5 ml Eppendorftube (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland), mit der jeweiligen Probanden- und Visitnummer gekennzeichnet, überführt und bis zur weiteren mikrobiologischen Verarbeitung bei -20°C eingefroren. Im Folgenden wird diese mikrobiologische Plaque- und Abstrichentnahme als „MiBi“ abgekürzt.

Bei den *P.g.* positiv getesteten Probanden erfolgte zu Beginn des zweiten Termins (V2) die Überprüfung der Mundhygiene durch Indices und die Entnahme einer Bürstenbiopsie von den Schleimhäuten (siehe Kapitel 2.7). Im Anschluss wurde eine professionelle supragingivale Zahnreinigung (PZR) mittels eines Schall-Scalers (SONICflex 2003 L mit Ansatz Nr. 60, KaVo, Biberach, Deutschland) und Handinstrumenten (Scaler 7835, Storz am Mark GmbH, Emmingen-Liptingen, Deutschland) durchgeführt. Zusätzlich wurden die Approximalräume mit Zahnseide (Oral B Superfloss, Braun GmbH, Kronberg/ Taunus, Deutschland) gereinigt. Die Zähne wurden abschließend durch die Anwendung eines Luft-Pulver-Wasserstrahlgerätes (AIR-FLOW MASTER, EMS, München, Deutschland) mit einem Glycin- (AIR-FLOW Powder Perio, EMS, München, Deutschland) und einem Natriumbicarbonatpulver (AIR-FLOW Powder Classic, EMS, München, Deutschland) komplett vom Biofilm und Verfärbungen befreit und mit einer Polierpaste (Cleanic mit Pro-Cup, KerrHawe, Ratstatt, Deutschland) geglättet. Anschließend wurde den Probanden die Mundspüllösung ausgehändigt und sie erhielten die Instruktion, mit 10 ml der Lösung jeweils 3 x täglich nach dem Zähneputzen für 3 min zu spülen. Die Spüllösung sollte nach Gebrauch ausgespuckt und nicht geschluckt werden. Die Anwendungsdauer betrug 7 Tage. Während dieser Zeit durften keine anderen Mundspüllösungen angewendet werden. Ansonsten sollten die Probanden ihre Mundhygienegewohnheiten unverändert fortsetzen. Es wurde kein Versuch unternommen, die Mundhygiene der Probanden zu verbessern, und es gab keine Einschränkungen bei der Auswahl der Zahnpasta, Zahnbürste und Artikeln zur Zahnzwischenraumpflege und deren Anwendungsfrequenz.
Mikrobiologische Proben wurden nach Abschluss der Zahnreinigung (V2), sowie 2 (V3), 4 (V4), 7 (V5) und 14 Tage (V6) nach Beginn des Spülprotokolls

entnommen. Bei den Probanden, bei denen sich in der Probe V6 *P.g.* nicht mehr nachweisen ließ, erfolgten zwei weitere Probenentnahmen nach 6 Wochen (V7) und 3 Monaten (V8).

Zu jedem Termin wurde die gesamte Mundhöhle, insbesondere

- die Gingiva und Alveolarmukosa
- der harte und weiche Gaumen
- die Wangenschleimhaut
- der Mundboden
- die Zunge

auf klinisch sichtbare Veränderungen hin untersucht.

Des Weiteren wurden die Probanden auf eventuell aufgetretene unerwünschte Ereignisse, Nebenwirkungen und geschmackliche Eigenschaften der Mundspüllösung hin befragt.

Zur Überprüfung der klinischen Plaque- und Entzündungsparameter wurden der leicht abgewandelte Approximalraum-Plaque-Index (API) und der modifizierte Sulkus-Blutungs-Index (SBI) an V2, V5, V6, V7 und V8 angewandt.

Beim API (Lange, Plagmann et al. 1977) wurde dichotom das Vorhandensein von Plaque im Interdentalraum beurteilt und diente als Indikator für die Suffizienz der individuellen Mundhygiene. Die Untersuchung erfolgte quadrantenweise in alternierender Beurteilung der bukkalen (2. und 4. Quadrant) und oralen (1. und 3. Quadrant) Approximalräume. In dieser Studie wurde die Plaqueakkumulation jedoch nicht durch das Anfärben der Plaque visuell verdeutlicht, sondern durch das Ausstreichen der Approximalräume mit einem Scaler bewertet.

Der API wurde in einer %-Zahl angegeben und nach folgender Formel berechnet:

$$\text{API} = \frac{\text{Summe der Plaque-positiven Approximaläume} \times 100}{\text{Gesamtzahl der bewerteten Approximalräume}}$$

Der zum API komplementäre SBI (Lange 1978) diente der Beurteilung des Entzündungsgrades der Gingiva. Hierfür wurden mit einer Parodontalsonde die Sulki und die Papillen ausgestrichen. Das Vorgehen erfolgte gegensinnig zum API im 1. und 3. Quadranten von bukkal und im 2. und 4. Quadranten von oral. Nach einer Wartezeit von 30 sec wurde durch eine Ja/Nein Entscheidung die Anzahl der

blutenden Parodontien bestimmt und der SBI in einem prozentualen Wert berechnet:

$$SBI = \frac{\text{Summe der Blutungs-positiven Parodontien} \times 100}{\text{Gesamtzahl der bewerteten Parodontien}}$$

Folgende Tabelle enthält alle, an dem jeweiligen Behandlungstag durchgeführten Maßnahmen:

V1	**V2** (falls *P.g.* an V1 positiv)	**V3**	**V4**	**V5**	**V6**	**V7** (falls *P.g.* an V6 negativ)	**V8** (falls *P.g.* an V6 negativ)
Screening	0.Tag	2. Tag	4. Tag	7. Tag	14. Tag	42. Tag	84. Tag
PSI Mibi	API/SBI Bürsten-biopsie PZR Mibi	Mibi	Mibi	API/SBI Bürsten-biopsie Mibi	API/SBI Mibi	API/SBI Mibi	API/SBI Mibi
	Start Mundspül-lösung (3x täglich, 3 min, 10 ml)	→	→	Stop Mundspül-lösung			

Tabelle 4: Studienablauf

Alle Maßnahmen an V2 bis V8 wurden ausschließlich durch den Prüfarzt SAF durchgeführt, um gleiche Studienvoraussetzungen zu schaffen. Das Screening wurde durch eine zahnärztliche Mitarbeiterin der Poliklinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Endodontologie, Universitätsklinikum Düsseldorf, unterstützt.

2.6 Molekularbiologische Methoden

Aus den Plaqueproben und Schleimhautabstrichen wurde mit einem handelsüblichen Kit die bakterielle DNA isoliert. In der Screeningphase wurden die

Proben mit spezifischen PCR-Primern auf das Bakterium *P.g.* (siehe Anhang **Tabelle 26**) untersucht. Bei den Probanden, die für diesen Keim positiv getestet und folglich in die Pilotstudie eingeschlossen wurden, wurden die Proben im weiteren Verlauf (V1- V8) auch quantitativ analysiert. Mittels quantitativer realtime-PCR wurden außerdem die Keime der kommensalen Mikroflora und anderer Oralpathogene analysiert und deren spezifische DNA-Konzentration in Relation zum Gesamtgehalt an bakterieller DNA gesetzt. Dadurch ließ sich sowohl die gesamte Bakterienbelastung, als auch die mit spezifischen Parodontopathogenen, sowie deren Relation zueinander während der Studie verfolgen. Die Analyse von *Candida albicans* erfolgte nur qualitativ.

2.6.1 DNA Isolation

Für die DNA Isolation aus den Plaqueproben wurde das innuPREP DNA Mini Kit (analytikjena AG, Jena, Deutschland) nach Herstellerangaben verwendet.

Zur Lyse der bakteriellen Zellmembran wurden 400 µl Lysis Solution TLS und 25 µl Proteinase K zu dem Plaque-besetzen Watteträger in das 1,5 ml Eppendorftube (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) gegeben. Für 5 sec wurde die Lösung durchmischt (Vortex Genius 3, OKA Werke, Staufen, Deutschland) und anschließend bei 50°C in einem Heizblock (Thermo-Shaker TS-100, PEQLAB Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland) inkubiert. Nach Entfernung des Watteträgers und erneuter Zugabe von 400 µl TLS wurde die Lösung für 15 sec geschüttelt und in ein 2,0 ml Tube mit einem DNA-bindenden Filter überführt. Dieses wurde bei 12.000 rpm für 2 min zentrifugiert. Der Filtereinsatz wurde folgend in ein neues Auffangtube eingesetzt und nach Zugabe von 500 µl Washing Solution HS erneut zentrifugiert (12.000 rpm, 1 min). Dieser Prozess wurde mit einem neuen Tube, 750 µl HS und gleicher Zentrifugaleinstellung wiederholt. Um den Auswaschungsvorgang zu beenden und jegliche Ethanolreste zu entfernen wurde der Filter mit einem neuen Tube nochmals bei maximaler Umdrehungszahl für 2 min zentrifugiert. Abschließend wurde zur Lösung der DNA vom Filtereinsatz dieser in ein Elutionstube mit 200 µl Elutions-Puffer gehängt, für 1 min bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend mit 8.000 rpm für 1 min zentrifugiert.

Die eluierte DNA wurde bis zur weiteren Verarbeitung bei -20°C aufbewahrt.

2.6.2 PCR

Bei der Polymerase-Kettenreaktion können spezifische DNA-Abschnitte, die durch speziell designte komplementäre Primer flankiert werden, *in vitro* vervielfältigt werden. Diese Simulation der DNA-Replikation erfolgt bei unterschiedlichen Temperaturen in einem einzigen Reaktionsgefäß unter Zuhilfenahme einer thermostabilen Polymerase des Bakteriums *Thermophilus aquaticus*.
Nach folgendem Schema wurde für die Standard-PCR der Ansatz mit 25 µl Gesamtvolumen erstellt:

10x PCR Buffer	2,5 µl	(Qiagen, Hilden, Deutschland)
Primer F (10 pmol/µl)	1,0 µl	(Eurofins MWG Operon, Ebersberg, Deutschland)
Primer R (10 pmol/µl)	1,0 µl	(Eurofins MWG Operon, Ebersberg, Deutschland)
H_2O	17,3 µl	
dNTP	1,0 µl	(Fermentas GmbH, St. Leon-Rot, Deutschland)
Taq (5 U/µl)	0,2 µl	(Qiagen, Hilden, Deutschland)
DNA	2,0 µl	

Dieser wurde in einen Multiply µ-Strip Pro Tube (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) umpipettiert und nach folgendem Protokoll in einem Thermo-Cycler (Mastercycler, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) amplifiziert:

Denaturierung	95°C	3 min	
Denaturierung	95°C	20 sec	⎫
Annealing	55°C	20 sec	⎬ 35 Zyklen
Elongation	72°C	45 sec	⎭
Ende	12°C		

Bei dem Thermocycling führte die hohe Anfangstemperatur zum Denaturieren, bzw. Aufschmelzen des DNA Doppelstranges. Bakterienartspezifische Primer (siehe Anhang **Tabelle 26**, hergestellt durch Eurofins MWG Operon, Ebersberg, Deutschland) konnten sich folgend bei reduzierter Temperatur an die gesuchte Zielsequenz anlagern (Annealing) und dienten der *Taq*-Polymerase als Startpunkt zur DNA-Synthese (Elongation). Während der 35-fachen zyklischen Wiederholung

dieses Prozesses wurde der gesuchte Genabschnitt fast exponentiell verdoppelt und amplifiziert.
Bei jeder PCR-Reihe fungierte *aqua dest*. als Negativkontrolle und DNA-Isolate bekannter Bakterienstämme, siehe Seite 31, als Positivkontrolle.

2.6.3 Gel-Elektrophorese

Die Gel-Elektrophorese diente der Identifizierung der zuvor amplifizierten DNA-Fragmente und deren Auftrennung der Größe nach in einem elektrischen Feld in einer Trägermatrix.
Hierfür wurde 1,5% Agarose Gel (Rezeptur siehe **Tabelle 5**) hergestellt, welches mit 12 µl Ethidiumbromidlösung (Konzentration 10mg/ml) versetzt und anschließend in eine Gelkammer mit Slots (Sub Cell-GT, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) gefüllt wurde. 25 µl des PCR-Produktes wurden mit 5 µl 6x-Ladepuffer vermischt und anschließend jeweils 12 µl dieses Ansatzes in eine Geltasche pipettiert.

10xTBE (TRIS-Borat-EDTA-Puffer)	**0,5M EDTA pH8**	**1,5 % Gel**	**6x-Ladepuffer**
108 g TRIS PUFFERAN	93,06 g EDTA	3,75 g Agarose Standard	70 ml VE-Wasser
55 g Borsäure	ad 500 ml VE-Wasser	ad 250 ml 0,5x TBE	30 ml Glycerin
40 ml 0,5M EDTA pH8	pH Einstellung auf pH 8 mit NaOH-Plätzchen		1 Messerspitze Bromphenolblau
ad 1 l VE-Wasser			

Tabelle 5: Rezeptur für die Bestandteile der Gel-Elektrophorese

Zusätzlich wurden 7,5 µl einer Referenzleiter (FastRuler Low Range DNA-Ladder 50- 1500bp, Thermo Fisher Scietific, Waltham, U.S.A.) in eine Geltasche gegeben. Hierdurch konnte die Größe des PCR-Produktes in Basenpaaren durch deren Laufweite im Gel im Vergleich zu den Größenstandards später bestimmt werden. Die Positiv- und Negativkontrollen der PCR wurden jeweils mit ins Gel geladen.
Abschließend wurde die Gelkammer mit 1,5 l 0,5x TBE gefüllt und für 45 min unter 150 V Spannung gesetzt (PowerPac Basic Power Supply, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland).
Die Gelbildaufnahme und –auswertung unter UV-Licht erfolgte automatisiert nach Herstellerangaben (Gel Doc XR System, Bio-Rad Laboratories GmbH, München,

Deutschland). Das in die DNA interkalierte Ethidiumbromid wurde unter UV-Bestrahlung sichtbar und stellte sich in den Aufnahmen als charakteristische Banden dar. Die Patientenproben galten als *P.g.* positiv, wenn die Position der spezifischen DNA-Banden mit der Position der Bande der Positivprobe übereinstimmte (siehe **Abb. 6**).

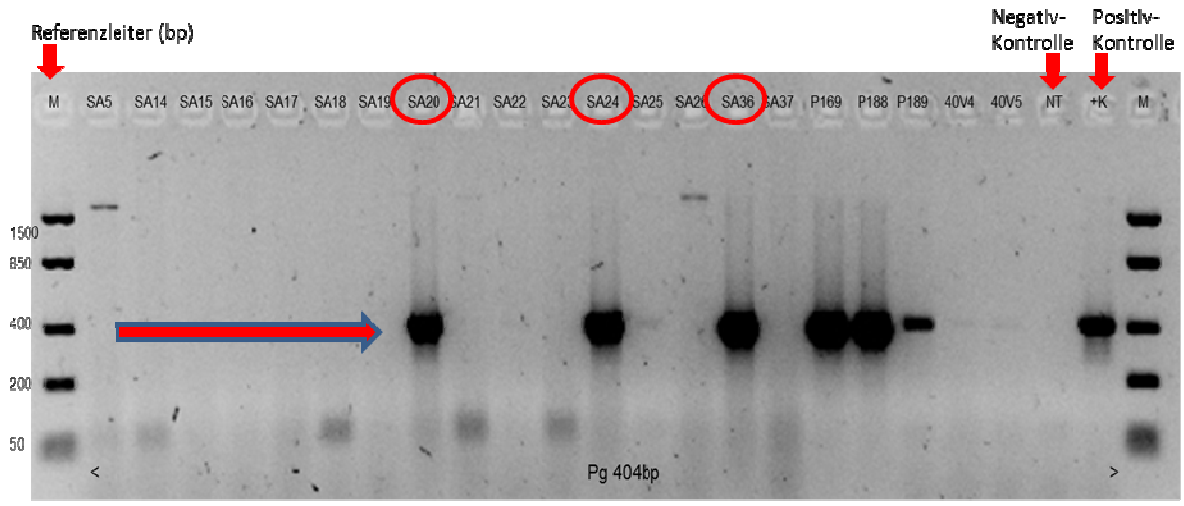

Abb: 6: Die Probanden SA20, SA24 und SA36 sind *P.g.* positiv.

2.6.4 Quantitative realtime-PCR

Nach DNA-Isolation aus den Proben V1-V8 wurden diese mittels quantitativer realtime-PCR auf ihren Gehalt folgender Bakterienarten untersucht:

kommensale Mikroflora	**kariogene Keime**	**parodontalpathogene Keime**
S.sang. *S.mitis* *Veill.* *Act.*	*S.mutans*	*P.g.* *A.a.* *T.d.* *T.f.* *P.*n. *P.i.* *E.c.*

Tabelle 6: Mittels qrt-PCR bestimmte Bakterienarten

Das Vorhandensein der intraoralen Hefepilzspezies *Candida albicans* wurde ebenfalls getestet.

Der Farbstoff SybrGreen (Maxima SYBR Green/ Fluorescein qPCR Master Mix, Thermo Fisher Scietific, Waltham, U.S.A.) wurde aufgrund seiner fluoreszierenden Eigenschaft zur Hilfe genommen. Die Fluoreszenz wird nach Einlagerung in die doppelsträngige DNA detektierbar und bei korrekter Amplifikation zeigt sich korrelierend zur exponentiellen Wachstumsrate des PCR-Produktes eine Zunahme dieses Fluoreszenzsignals. Um daraus eine quantitative Aussage über den Gehalt an spezifischer Bakterien-DNA treffen zu können, wurden von jeder Probe drei Verdünnungsreihen (1: 10, 1: 100, 1: 1000) erstellt. Durch den Einsatz eines universellen 16S-RNA Primerpaares, der bei allen Bakterienarten die gleiche Zielsequenz besetzt, erfolgte die Bestimmung der Gesamtkeimzahl in der Probe und den Verdünnungsreihen. Somit wurde jede Probe als ihr eigener Standard verwendet und der Anteil der mit spezifischen Primern analysierten Arten konnte anhand der erstellten Standardkurven ermittelt werden. Die Ergebnisdarstellung der zu untersuchenden Keime erfolgte nicht in absoluten Zahlen, sondern in relativen Anteilen der spezifischen Bakterienart zur Gesamtkeimzahl. Durch die Verhältnisbildung wurden die häufig bei absoluten Zahlen auftretenden Schwankungen neutralisiert und die Probenentnahme war weniger fehleranfällig.

Für diese oben genannte Versuchsreihe wurden 96er-Polypropylen Mikroplatten (Low Multiplate 96 clear, Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) bestückt (siehe als Beispiel Seite 32, **Abb. 7**).

Bei der Erstellung der Verdünnungsreihe wurden 5 µl von jeder DNA-Probe in 45 µl H_2O (dies entspricht einer Verdünnung 1: 10) pipettiert, aus dieser verdünnten Lösung wieder 5 µl in 45 µl H_2O (entspricht 1:100) und erneut 5 µl von der 1:100-Verdünnung in 45 µl H_2O (entspricht 1:1000). Für den Primeransatz wurden jeweils 10 µl des ausgewählten Forward- und Reverse-Primers einer bestimmten Bakterienart (siehe Anhang **Tabelle 26**) mit 380 µl H_2O vermengt und 4 µl dieser Lösung in die nach dem Pipettierschema (**Abb. 7**, roter Block) vorgegeben Tubes der Mikroplatte vorpipettiert. Anschließend wurden jeweils 1 µl der Bakterien-DNA bekannter Kontrollstämme in die jeweiligen Tubes der Positivkontrollen (**Abb. 7**, grüner Block, PosK) und der Verdünnungsreihe (**Abb. 7**, blauer Block) gegeben.

Folgende Kontrollstämme sind in dieser Versuchsreihe verwendet worden:

P.g.	DSM 20709 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)
A.a.	DSM 0711 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)
T.d.	DSM 14222 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)
T.f.	DSM 43037 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)
*P.*n.	DSM 13386 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)
P.i.	DSM 20706 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)
E.c.	DSM 8340 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)
S.mutans	DSM 20523 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)
C.albicans	DSM 10697 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)
S.sang.	DSM 20567 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)
S.mitis	DSM 12643 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)
Veill.	DSM 2008 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)
Act.	DSM 43327 (Leibniz-Institut DSMZ, Braunschweig, Deutschland)

Für die weitere Verarbeitung der Proben wurde eine Mastermix-Lösung nach anhängender Rezeptur hergestellt:

980 µl maxima SybrGreen (Thermo Fisher Scietific, Waltham, U.S.A.)
441 µl H_2O
49 µl Uracil DNA Glycosylase (Thermo Fisher Scietific, Waltham, U.S.A.)

Von dieser Lösung wurden 15 µl zu jedem Ansatz der Negativ- und Positivkontrollen gegeben (**Abb. 7**, grüner Block). Im Anschluss wurde der Mastermix aliquotiert. Es wurden 6x 143 µl mit 9,5 µl der jeweiligen Original-DNA aus V1- V6 gemischt und 16 µl davon in den zugehörigen Ansatz mit den spezifischen Primern pipettiert (**Abb. 7**, roter Block). Die restliche Master-mixlösung (mind. 342 µl) wurde mit 92 µl der poly 16S-Primer versetzt und jeweils 19 µl auf die Standardverdünnungsreihen, sowie der Positiv- und Negativ-Kontrolle für die poly 16S Primer gegeben (**Abb. 7**, blauer Block). Die Primer von *A.a., P.g., E.c., P.i., S.sang., S.mitis, T.d., Act., Veill*. und *C.albicans* besitzen die gleiche Annealing-Temperatur (60°C), so dass analog zu dem zuvor genannten Vorgehen eine Mikroplatte pro Proband erstellt wurde. Da unter Standard-PCR-Bedingungen die optimale Primer-Temperatur für *P.n., B.f.* und *S.mutans* bei 63°C liegt, wurden für diese Keime separate Mikroplatten erstellt. Die folgende qrt-PCR mit 40 Zyklen wurde mit einem CFX 96 RealTime PCR Detection System

Thermocycler (Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) nach Herstellerangaben und unter Berücksichtigung der optimalen Annealingtemperatur der Primer durchgeführt. Mittels der Bio-Rad CFX Manager 3.0 Software (Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) wurden die Ergebnisse ausgewertet und visualisiert (siehe **Abb. 8**).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	SA-01 V1 Poly16S 1:10	SA-01 V1 Poly16S 1:100	SA-01 V1 Poly16S 1:1000	SA-01 V1 Aa	SA-01 V1 Pg	SA-01 V1 Ec	SA-01 V1 Pit	SA-01 V1 S.sangu	SA-01 V1 S.mitis	SA-01 V1 Td	SA-01 V1 Act	SA-01 V1 Veill
B	SA-01 V2 Poly16S 1:10	SA-01 V2 Poly16S 1:100	SA-01 V2 Poly16S 1:1000	SA-01 V2 Aa	SA-01 V2 Pg	SA-01 V2 Ec	SA-01 V2 Pit	SA-01 V2 S.sangu	SA-01 V2 S.mitis	SA-01 V2 Td	SA-01 V2 Act	SA-01 V2 Veill
C	SA-01 V3 Poly16S 1:10	SA-01 V3 Poly16S 1:100	SA-01 V3 Poly16S 1:1000	SA-01 V3 Aa	SA-01 V3 Pg	SA-01 V3 Ec	SA-01 V3 Pit	SA-01 V3 S.sangu	SA-01 V3 S.mitis	SA-01 V3 Td	SA-01 V3 Act	SA-01 V3 Veill
D	SA-01 V4 Poly16S 1:10	SA-01 V4 Poly16S 1:100	SA-01 V4 Poly16S 1:1000	SA-01 V4 Aa	SA-01 V4 Pg	SA-01 V4 Ec	SA-01 V4 Pit	SA-01 V4 S.sangu	SA-01 V4 S.mitis	SA-01 V4 Td	SA-01 V4 Act	SA-01 V4 Veill
E	SA-01 V5 Poly16S 1:10	SA-01 V5 Poly16S 1:100	SA-01 V5 Poly16S 1:1000	SA-01 V5 Aa	SA-01 V5 Pg	SA-01 V5 Ec	SA-01 V5 Pit	SA-01 V5 S.sangu	SA-01 V5 S.mitis	SA-01 V5 Td	SA-01 V5 Act	SA-01 V5 Veill
F	SA-01 V6 Poly16S 1:10	SA-01 V6 Poly16S 1:100	SA-01 V6 Poly16S 1:1000	SA-01 V6 Aa	SA-01 V6 Pg	SA-01 V6 Ec	SA-01 V6 Pit	SA-01 V6 S.sangu	SA-01 V6 S.mitis	SA-01 V6 Td	SA-01 V6 Act	SA-01 V6 Veill
G	NegK poly16S			NegK Aa	NegK Pg	NegK Ec	NegK Pit	NegK S.sangu	NegK S.mitis	NegK Td	NegK Act	NegK Veill
H	PosK poly16S DNA-St			PosK Aa	PosK Pg	PosK Ec	PosK Pit	PosK S.sangu	PosK S.mitis	PosK Td	PosK Act	PosK Veill

Abb. 7: Beispiel Pipettierschema Mikroplatte für Proband SA-01 V1-V6.

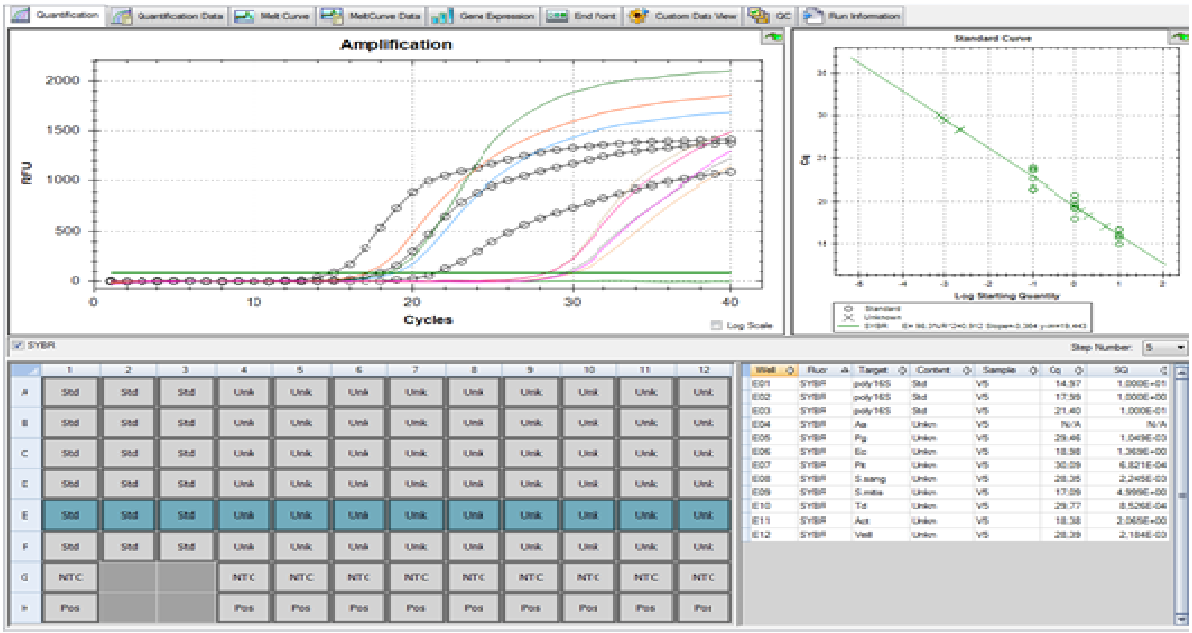

Abb. 8: Darstellung der Ergebnisse durch die Software Bio-Rad CFX Manager 3.0 (Bio-Rad Laboratories GmbH, München, Deutschland) für den Probanden SA-105 V5.

Da die intraorale Hefepilzspezies *Candida albicans* zu den Eukaryoten zählt und deren DNA von den universellen 16S-RNA Primer nicht amplifiziert wird, wurde hierfür nur dichotom die Prävalenz bestimmt. Bei Probanden, die schon bei der ersten Messung V1 keinen Befall mit *C.albicans* aufwiesen, wurde auf eine erneute Untersuchung zu späteren Messzeitpunkten verzichtet. Basierend auf der Annahme, dass diese Patienten nach einem negativen Befund im weiteren Verlauf der Untersuchung keinen positiven Befund aufweisen würden, wurden die Messwerte dieser Patienten entsprechend des Intention-to-treat-Prinzips für alle folgenden Messzeitpunkte mit dem Wert „0 = nicht vorhanden“ ergänzt.

2.7 Cytopathologische Methoden

Obwohl RA in einer Konzentration von 0,8% als nicht cytotoxisch gilt, sollten parallel zu den oben genannten klinisch visuellen Untersuchungen bei den Studienprobanden etwaige Nebenwirkungen auf cytologischem Niveau mittels Bürstenbiopsie untersucht werden. Diese non-invasive und schmerzlose Entnahmetechnik erlaubt eine hochsensitive und spezifische Identifikation möglicher Zellschäden, noch bevor klinische Anzeichen sichtbar sind (Remmerbach, Mathes et al. 2004).

Hierfür wurden zu Studienbeginn (V2) und nach Abschluss des Spülprotokolls (V5) mittels Kunststoffbürsten (Gynobrush Plus, Heinz Herenz Hamburg, Deutschland) durch mehrmaliges Rotieren auf der Alveolarmukosa abgeschilferte Plattenepithelzellen gewonnen. Das Zellmaterial wurde an vier Stellen unter leichtem Druck rotierend auf einen Objektträger mit Mattrand übertragen. Die Ausstriche wurden sofort (innerhalb von fünf Sekunden) aus etwa 20 cm Entfernung satt mit Fixationsspray (Merckofix, Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland) eingesprüht, bis ein durchgehender Flüssigkeitsfilm entstanden ist. Nach der Methode von Dr. Papanicolaou (Ayyad, Israel et al. 2006) wurden diese Abstriche aufgearbeitet und auf ihren Dysplasiegrad hin untersucht. Diese Methodik ist am Institut für Cytopathologie (Leiter Prof. Dr. med. Stefan Biesterfeld) des Universitätsklinikums Düsseldorf etabliert und das cytologische Gutachten wurde durch einen ärztlichen Mitarbeiter dieses Institutes nach der Düsseldorfer Nomenklatur (Bocking 1998) erstellt.

2.8 Datenverarbeitung und statistische Analyse

Alle EDV-verwalteten Daten wurden in pseudonymisierter Form gespeichert und statistisch ausgewertet. Dabei erhielt jeder Proband eine chronologisch dem Screening-Datum entsprechende Nummer zugeordnet, die durch die Abkürzung des jeweiligen Behandlungstages ergänzt wurde (SA-001 V5: der erste Proband, 5. Visit). Die erhobenen Informationen unterlagen der ärztlichen Schweigepflicht, und die datenschutzrechtlichen Vorschriften wurden beachtet. Nach Beendigung der klinischen Testphase und Auswertung der mikro-biologischen Proben wurden die Probanden anhand des Randomisierungsschemas der jeweiligen Verum- oder Placebogruppe zugeordnet.

Mit Hilfe des Programms Office Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, W.A., U.S.A.) wurden alle Untersuchungsergebnisse in tabellarischer Form zusammengefasst. Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm IBM SPSS Statistics 21 (IBM, Armonk, N.Y., U.S.A.) für Windows unter fachlicher Anleitung durch die Diplom-Psychologen Dr. rer. nat. M. Ostapczuk und A. Hoffmann, Institut für Experimentelle Psychologie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, durchgeführt.

Aufgrund der geringen Gruppengröße von $n < 30$ wurden nicht-parametrische Testverfahren für die weitere Analyse gewählt. In der einfachen deskriptiven Analyse wurden kontinuierliche Daten als arithmetische Mittelwerte und deren Streuwerte als Standardabweichungen angegeben. Da die Mediane gerade bei kleinen Stichprobengrößen ($n < 30$) unempfindlicher gegen Ausreißerwerte sind, wurden diese Variablen bei der Evaluation der Größe und Tendenz eines Effekts mit in Betracht gezogen. Um die Gruppen miteinander zu vergleichen, wurde der Mann-Whitney-U-Test gewählt. Dabei zeigte ein signifikanter Test mit einer asymptotische Signifikanz $p \leq 0{,}05$ an, dass es einen Unterschied gibt. Dementsprechend gab es bei einem nicht signifikanten Test (asymptotische Signifikanz $p > 0{,}05$) keinen Unterschied. Wenn mehr als zwei Messzeitpunkte miteinander verglichen werden sollten, wurde mit der Friedman-Rangvarianzanalyse getestet, ob es innerhalb der verbundenen Stichproben Unterschiede über die Zeit gab. Dabei zeigte ein signifikanter Test (asymptotische Signifikanz $p \leq 0{,}05$), dass es zwischen zwei Werten einen Unterschied gab. Dieser Test definierte jedoch nicht zwischen welchen Werten genau. Folglich wurde mittels eines posthoc Tests nach Wilcoxon unter Verwendung eines

Bonferroni-korrigierten α-Fehler-Niveaus von (0,05/ Anzahl der Tests) das Ergebnis analysiert, welche Messungen sich genau unterschieden. Der Zusammenhang zwischen nominal verteilten Variablen wurde mittels des exakten Fisher-Tests, Spezialfall des chi-quadrat Tests für 2x2 Designs, berechnet. Hierbei wurde ein signifikanter Test (exakte Signifikanz, 2-seitig ≤ 0,05) als ein Zusammenhang gewertet.

Generell galt für die Prüfung der Daten das α-Fehler Niveau von 5%, wobei die Angabe entweder als exakter p-Wert oder als Signifikanzniveau mit

p> 0,05 nicht signifikant

p≤ 0,05 signifikant

p≤ 0,01 hoch signifikant

p≤ 0,001 höchst signifikant

erfolgte.

Durch SPSS wurden Ergebnisse mit einem p< 0,001 als 0,000 angezeigt. Die graphische Darstellung erfolgte ebenfalls durch SPSS, hierbei wurden Boxplot-Diagramme zur Veranschaulichung der Mediane, Quartilsabstände mit 25. und 75. Perzentile und dem jeweiligen größten und kleinsten nachweisbaren Wert gewählt.

3 Ergebnisse

3.1 Demographie

Von den 42 in die Studie aufgenommenen Probanden traten 4 wegen Terminschwierigkeiten noch vor Studienbeginn von ihrer Teilnahme zurück. Eine Probandin wurde vorzeitig von der Studie ausgeschlossen, nachdem sie sich kurz nach dem Screeningtermin einer systemischen Antibiotikatherapie unterziehen musste. Zwei weitere Probanden mussten ausscheiden, da sie die Untersuchungen V4 und V5 versäumt hatten.

Insgesamt haben 35 Probanden alle notwendigen Untersuchungen vollständig und termingerecht durchführen lassen. Die Verumgruppe bestand aus 18 Probanden, die Placebogruppe wurde von 17 Personen gebildet (siehe **Tabelle 7**).

	Verumgruppe	**Placebogruppe**
N	18	17
Alter	44,83 ± 15,33	41,41 ± 13,31
Frauen	12	13
Raucher	2	2
Zahnanzahl	27,44 ± 2,04	27,88 ± 2,42
API V2	46,56 ± 24,32	49,24 ± 22,24
SBI V2	28,28 ± 19,37	35,35 ± 23,66

Tabelle 7: Demographie der Verum- und Placebogruppe (MW ± SD)

Ein eindimensionaler chi-quadrat Test zeigte, dass sich die Probanden gleichmäßig auf die Verum- und Placebogruppe verteilten (chi-quadrat= 0,029, df= 1, p= 0,866). Der exakte Fisher-Test ermittelte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Gruppenzugehörigkeit und Geschlecht, d.h. der Anteil an Frauen bzw. Männern unterschied sich zwischen Verum- und Placebogruppe nicht signifikant voneinander (p= 0,71). Beim Raucherstatus lag ebenfalls Gleichverteilung vor (p= 1,000). Ein Mann-Whitney-U-Test zeigte hinsichtlich der untersuchten Parameter Alter (Mann-Whitney U= 134,50, z= -0,611, p= 0,546), Zahnanzahl (Mann-Whitney U= 144,00, z= -0,302, p= 0,782), API V2 (Mann-Whitney U= 141,00, z= -0,396, p= 0,708) und SBI V2 (Mann-Whitney U= 124,00, z= -0,958, p= 0,351) auch keinen signifikanten Unterschied zwischen Verum- und Placebogruppe.

Zusammenfassend waren die beiden Gruppen in Bezug auf Gruppengröße, Alter, Geschlecht, Raucherstatus, Zahnanzahl und Ausgangswerten des Mundhygienestatus, API und SBI, gleich verteilt.

3.2 Klinische Ergebnisse

Die Werte von API und SBI wurden in dem folgenden Abschnitt und in **Tabelle 27** des Anhangs als Prozent angegeben, d.h. 0,4600= 46,00%.

In der **Tabelle 8** und der **Abb. 9** sind die Werte des API dargestellt. Initial lag der API in der Placebogruppe bei 46,00% und war an den Folgeuntersuchungen V5 und V6 reduziert. Ein Friedmann-Test zeigte jedoch, dass es in dieser Gruppe keinen signifikanten Unterschied in den API-Werten über drei Messzeitpunkte hinweg gab (chi-quadrat= 5,385; df= 2; p= 0,068). In der Verumgruppe mit einem Ausgangswert von 38,00% konnte der Friedmann-Test hingegen zeigen, dass es einen signifikanten Unterschied in den API-Werten gab (chi-quadrat= 10,623, df= 2, p= 0,005). Posthoc zeigten Wilcoxon Tests auf einem Bonferroni-korrigierten α-Fehler-Niveau von 0,05/ 2= 0,025, dass es eine signifikante Reduktion des API zwischen den Messzeitpunkten V2 zu V5 (z= -2,324; p= 0,020) und V2 zu V6 (z= -2,615; p= 0,009) gab.

Der Vergleich zwischen den Gruppen mittels eines Mann-Whitney-U-Test zeigte jedoch hinsichtlich des API zu keinem Messzeitpunkt einen signifikanten Unterschied zwischen Verum- und Placebogruppe.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
API_V2	17	0,4600	0,3150	0,6300	18	0,3800	0,2575	0,6850
API_V5	17	0,2700	0,2000	0,4650	18	0,3650	0,2475	0,4600
API_V6	17	0,3500	0,2650	0,4450	18	0,2950	0,1300	0,6175

Tabelle 8: Medianer approximaler Plaqueindex API und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an drei Untersuchungszeitpunkten

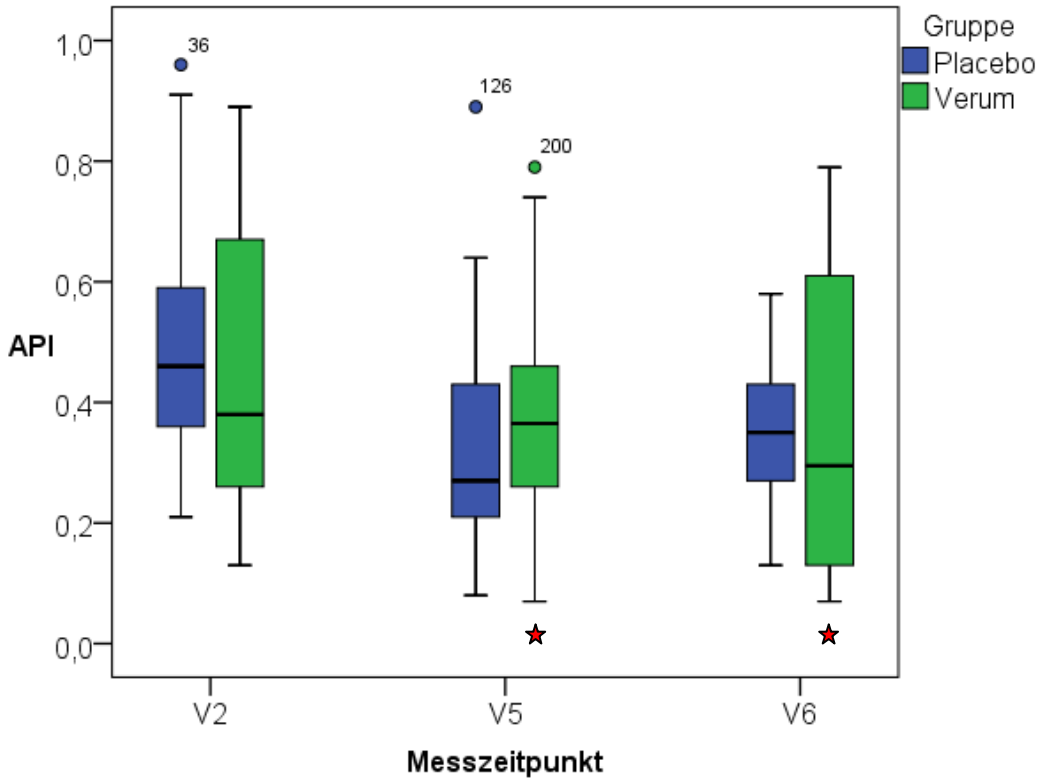

Abb. 9: API und Streuung in Prozentzahlen (0,4= 40%) im Boxplot-Diagramm bei den jeweiligen Probandengruppen an drei Messzeitpunkten, signifikanter Unterschied zu V2 gekennzeichnet durch ★

In der **Tabelle 9** und der **Abb. 10** sind die Daten des modifizierten Sulkus-Blutungs-Index festgehalten. Die Ausgangswerte waren in der Placebogruppe bei 28,00% und in der Verumgruppe bei 22,40% und lagen an V5 und V6 auf einem deutlich reduzierten Niveau. Dieses spiegelte sich in signifikanten Friedmann-Tests in beiden Gruppen wieder mit (chi-quadrat= 7,406; df= 2; p= 0,025) in der Placebogruppe und einem höchst signifikanten Unterschied in der Verumgruppe (chi-quadrat= 18,381; df= 2; p< 0,001).

Für die Placebogruppe ergab sich posthoc nach Wilcoxon auf einem Bonferroni-korrigierten α-Fehler-Niveau von 0,05/ 2= 0,025 ein signifikanter Unterschied zwischen V2 und V5 (z= -2,926; p= 0,003). Der gleiche Test konnte in der Verumgruppe nicht nur einen signifikanten Unterschied zwischen V2 und V5 (z= -3,520; p< 0,001), sondern auch zwischen V2 und V6 (z= -2,955; p= 0,003) nachweisen. Beim Vergleich zwischen der Verum- und Placebogruppe zeigte sich an V5 ein tendenziell signifikanter Unterschied (Mann-Whitney U= 95,000, z= -1,919, p= 0,057). Die Darstellung im Boxplot (**Abb. 10**) zeigt für beide Gruppen ebenfalls eine Reduktion der Streuung der Einzelwerte.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
SBI_V2	17	0,2800	0,2080	0,4775	18	0,2240	0,1670	0,3818
SBI_V5	17	0,1670	0,0800	0,2200	18	0,0830	0,0420	0,1670
SBI_V6	17	0,2270	0,1250	0,2755	18	0,1250	0,0733	0,2080

Tabelle 9: Medianer modifizierter Sulkus-Blutungs-Index SBI und Streuwerte (25. Und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an drei Untersuchungszeitpunkten

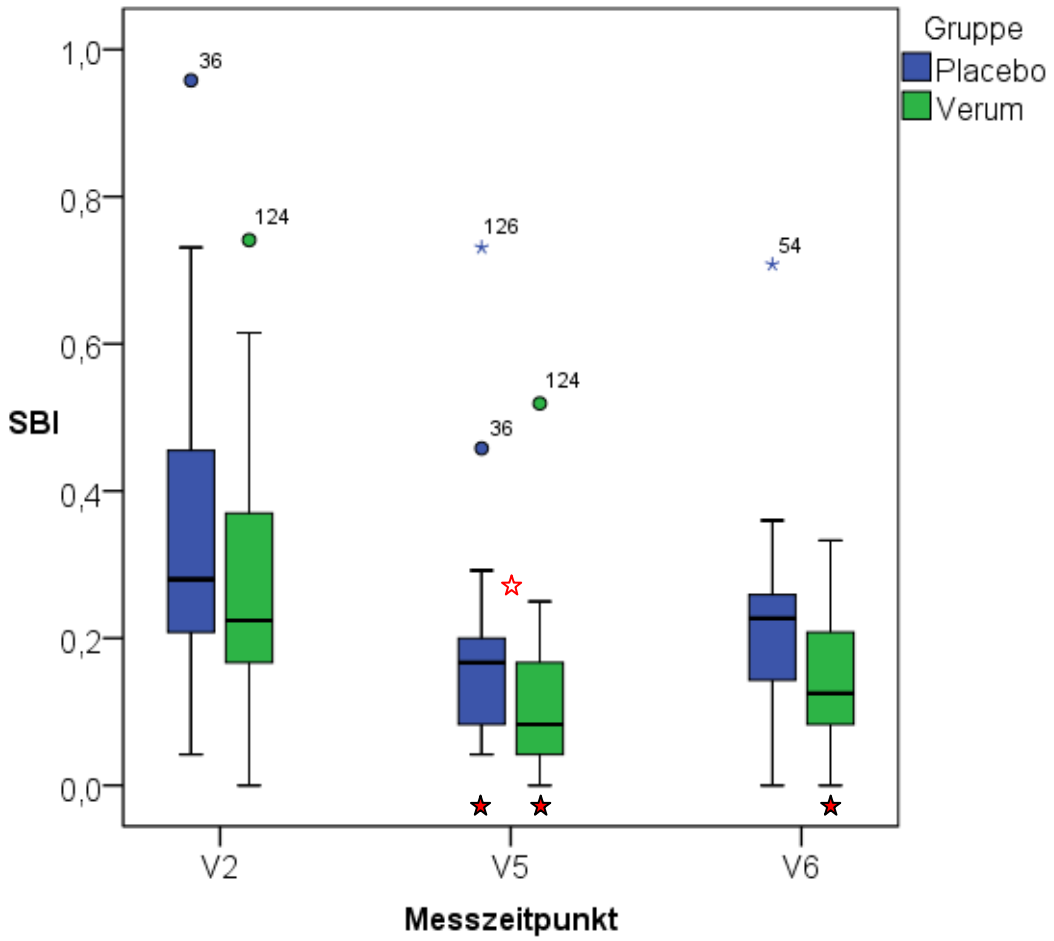

Abb. 10: SBI und Streuung in Prozentzahlen (0,4= 40%) im Boxplot-Diagramm bei den jeweiligen Probandengruppen an drei Messzeitpunkten, signifikanter Unterschied zu V2 gekennzeichnet durch ★ , tendenziell signifikanter Unterschied zwischen Verum- und Placebogruppe gekennzeichnet durch ☆

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Anwendung von RA1 zu einer signifikanten Reduktion der Plaque- und Blutungsindices 7 und 14 Tage nach einer professionellen Zahnreinigung führte, jedoch nicht signifikant unterschiedlich zur Placebolösung. Diese reduzierte lediglich den SBI an V5.

3.3 Befragung der Probanden

Zu keinem Zeitpunkt der Studie traten schwere, unerwünschte Ereignisse oder unvorhergesehene Nebenwirkungen auf.

Die bekannte charakteristische Nebenwirkung des gerbstoffhaltigen RA, die Verfärbung der Zähne und Schleimhäute, konnte bei acht Personen in der Verumgruppe anhand einer bräunlichen Zungenverfärbung gesehen werden (siehe **Abb. 11**).

Abb. 11: Bräunliche Verfärbung der Zunge bei den Probanden SA163 und SA139 an V5

Zusätzlich berichteten vier Teilnehmer dieser Gruppe über weißliche Flocken beim Ausspucken und drei empfanden nach dem Spülen Mundtrockenheit und ein stumpfes Gefühl auf den Zähnen und Schleimhäuten. Ein Proband der Placebogruppe berichtete ebenfalls von einer Verfärbung der Zunge und trockenem Mund. Jeweils zwei Personen aus beiden Gruppen empfanden die zu testende Mundspüllösung aufgrund des alkoholischen Geschmackes als äußerst unangenehm, wohingegen sechs Personen der Verumgruppe und neun aus der Placebogruppe keine Beanstandungen zu machen hatten. In der Placebogruppe waren zwei Probanden darüber besorgt, dass sich ihre Zähne verfärbt hätten. Eine Politur nach dem letzten Visit konnte dieses nicht verifizieren.

Weiterhin klagte ein Proband über ein vermindertes Geschmacksempfinden nach der ersten Anwendung, diese legte sich jedoch im Verlauf der 7-tägigen Spülphase. Das Sodbrennen eines Placebogruppenteilnehmers stand zwar im zeitlichen Zusammenhang mit dem Spülen, war jedoch nur ein einmaliges Ereignis (siehe **Tabelle 10**).

	Verumgruppe (n=18)	Placebogruppe (n=17)
o.B.	33,33 % (6)	52,94 % (9)
Geschmack unangenehm (alkoholisch)	11,11 % (2)	11,74 % (2)
bräunliche Verfärbung der Zunge	44,44 % (8)	5,88 % (1)
weißliche Flocken beim Ausspucken	22,22 % (4)	/
stumpfer Nachgeschmack, trockener Mund, zusammenziehendes Gefühl	16,67 % (3)	5,88 % (1)
subjektive Zahnverfärbung	/	11,74 % (2)
verminderte Geschmacksintensität	/	5,88 % (1)
Sodbrennen	/	5,88 % (1)

Tabelle 10: Nebenwirkungen und geschmackliche Eigenschaften von Verum/ Placebo

Mittels eines exakten Tests nach Fischer wurde überprüft, ob es einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einzelner Nebenwirkungen und der Gruppenzugehörigkeit gab. Lediglich die bräunliche Verfärbung der Zunge kam signifikant häufiger in der Verum- als in der Placebogruppe vor (p= 0,018).

3.4 Mikrobiologische Ergebnisse

Insgesamt wurden nur drei Probanden an V6 negativ auf *P.g.* getestet und dementsprechend nach 6 und 12 Wochen erneut untersucht. Dieses galt für einen Proband der Verumgruppe (SA138) und zwei Probanden der Placebogruppe (SA120, SA126). Aufgrund der zu geringen Stichprobengröße ließ sich kein Signifikanztest anwenden und dadurch wurden die Ergebnisse aus V7 und V8 bei der weiteren statistischen Analyse nicht mehr berücksichtigt.

Für alle getesteten Mikroorganismen zeigten sich in der Ausgangssituation keine signifikanten Unterschiede zwischen der Verum- und der Placebogruppe.

3.4.1 Prävalenz *Porphyromonas gingivalis*

Von den insgesamt 249 gescreenten Probanden waren 42 Personen *P.g.* positiv. Dies entspricht einer Prävalenz von 16,9% in der Gesamtstudienpopulation. Nach Altersgruppen aufgeschlüsselt ergab sich folgende Verteilung:

***P.g.* * Altersstufe Kreuztabelle**						
			Altersstufe			**Gesamt**
			18- 39	**40- 59**	**60+**	
P.g.	**negativ**	Anzahl	170	35	2	207
		% innerhalb von Altersstufe	88,1%	74,5%	22,2%	83,1%
	positiv	Anzahl	23	12	7	42
		% innerhalb von Altersstufe	11,9%	25,5%	77,8%	16,9%
Gesamt		Anzahl	193	47	9	249
		% innerhalb von Altersstufe	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 11: *P.g.* Prävalenz der Gesamtstudienpopulation innerhalb unterschiedlicher Altersgruppen

Ein 3x2 chi-quadrat Test zeigte einen hoch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten von *P.g.* und dem Alter der Probanden (chi-quadrat= 29.702, df= 2, p< 0,001).

In der **Tabelle 12** und der **Abb. 12** sind die Ergebnisse des *P.g.* Gehaltes im relativen Anteil zur Gesamtplaquemenge an sechs unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten dargestellt. In der Placebogruppe erwies sich der Friedmann Test als höchst signifikant (chi-quadrat= 24,991; df= 5; p< 0,001). Posthoc nach Wilcoxon auf einem Bonferroni-korrigierten α-Fehler-Niveau von 0,05/ 5= 0,01 zeigte sich eine signifikante Reduktion von *P.g.* im Vergleich zum Ausgangsbefund V1 an den Messzeitpunkten V3 (z= -2,604; p= 0,009), V4 (z= -3,129; p= 0,002) und V5 (z= -3,055; p= 0,002).

Für die Verumgruppe war der Friedmann Test ebenfalls signifikant (chi-quadrat= 13,060; df= 5; p= 0,023), jedoch konnten im Wilcoxon Test keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zum Untersuchungszeitpunkt V1 ermittelt werden. Die Darstellung im Boxplot zeigt nach einer initialen Reduktion bis V4 in beiden Gruppen eine tendenzielle Zunahme des P.g. und vermehrte Streuung der Einzelwerte innerhalb der Verumgruppe. Zu keinem Messzeitpunkt konnte ein signifikanter Unterschied zwischen der Verum- und Placebogruppe im Mann-Whitney-U Test festgestellt werden.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
Pg_PCR_V1	17	0,020000	0,003000	0,175000	18	0,035000	0,001700	0,125000
Pg_PCR_V2	17	0,010000	0,001300	0,085000	18	0,014000	0,000170	0,135000
Pg_PCR_V3	17	0,001000	0,000065	0,020000	18	0,005500	0,000100	0,037500
Pg_PCR_V4	17	0,004000	0,000800	0,015000	18	0,002000	0,000100	0,020000
Pg_PCR_V5	17	0,001000	0,000250	0,015000	18	0,025000	0,000500	0,100000
Pg_PCR_V6	17	0,010000	0,002000	0,035000	18	0,025000	0,001750	0,060000

Tabelle 12: Medianer *P.g.* Gehalt als relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an sechs Untersuchungszeitpunkten

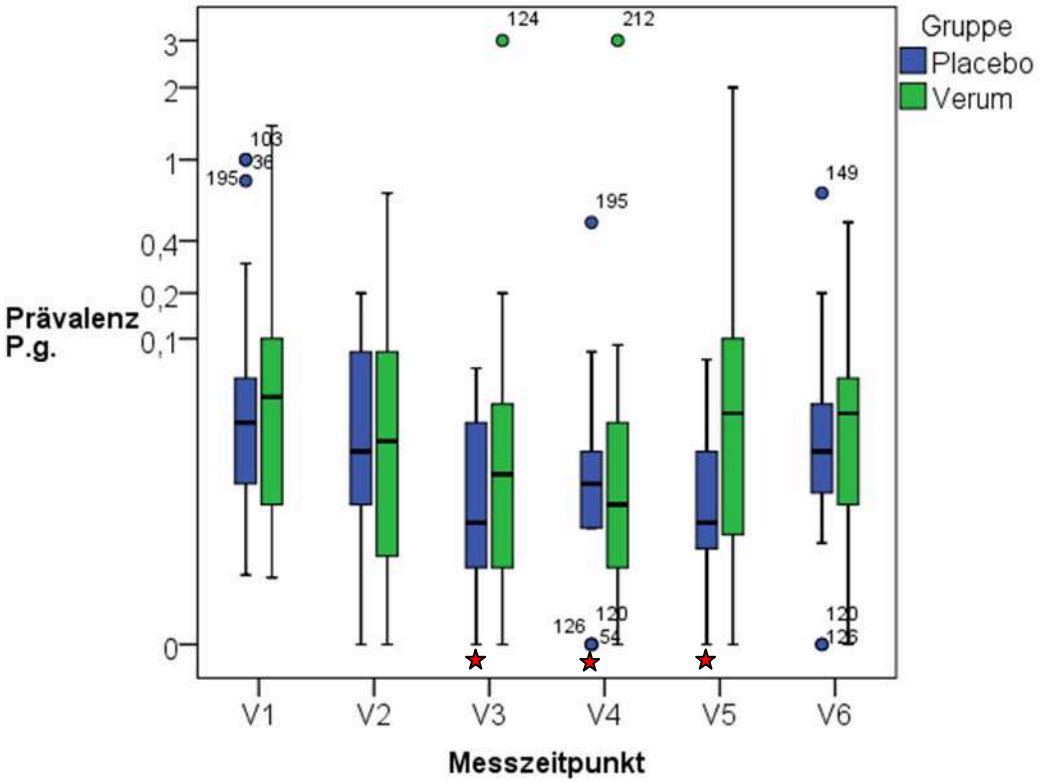

Abb. 12: Prävalenz *P.g.* (relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl) zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Boxplot-Diagramm, Y-Achse in nicht linearer Darstellung zum Exponenten 0,2; signifikanter Unterschied zu V1 gekennzeichnet durch ★

Zusammenfassend ist festzustellen, dass mit steigendem Alter auch die *P.g.* Prävalenz zunimmt. Die Anwendung der Placebolösung in Kombination mit einer professionellen Zahnreinigung führte im Gegensatz zur Verumlösung zu einer signifikanten Reduktion der *P.g.* Prävalenz bis V5. Generell bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Mundspüllösungen.

3.4.2 Prävalenz anderer oralpathogener Mikroorganismen

In der **Tabelle 13** und der **Abb. 13** werden die Werte für *A.a.* präsentiert. Friedmann Tests waren für die Placebo- (chi-quadrat= 4,453; df= 5; p=0,486) und Verumgruppe (chi-quadrat= 9,328; df= 5; p= 0,097) nicht signifikant, so dass keine weiteren Testverfahren zur Bestimmung von Messzeitpunktsunterschieden innerhalb der Gruppen durchgeführt wurden. Ebenfalls konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen nach Mann-Whitney-U berechnet werden.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
Aa_PCR_V1	17	0,000000	0,000000	0,000500	18	0,000000	0,000000	0,000000
Aa_PCR_V2	17	0,000000	0,000000	0,000000	18	0,000000	0,000000	0,000000
Aa_PCR_V3	17	0,000000	0,000000	0,000700	18	0,000000	0,000000	0,000000
Aa_PCR_V4	17	0,000000	0,000000	0,002000	18	0,000000	0,000000	0,000050
Aa_PCR_V5	17	0,000000	0,000000	0,002650	18	0,000000	0,000000	0,000225
Aa_PCR_V6	17	0,000000	0,000000	0,000000	18	0,000000	0,000000	0,000025

Tabelle 13: Medianer *A.a.* Gehalt als relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an sechs Untersuchungszeitpunkten

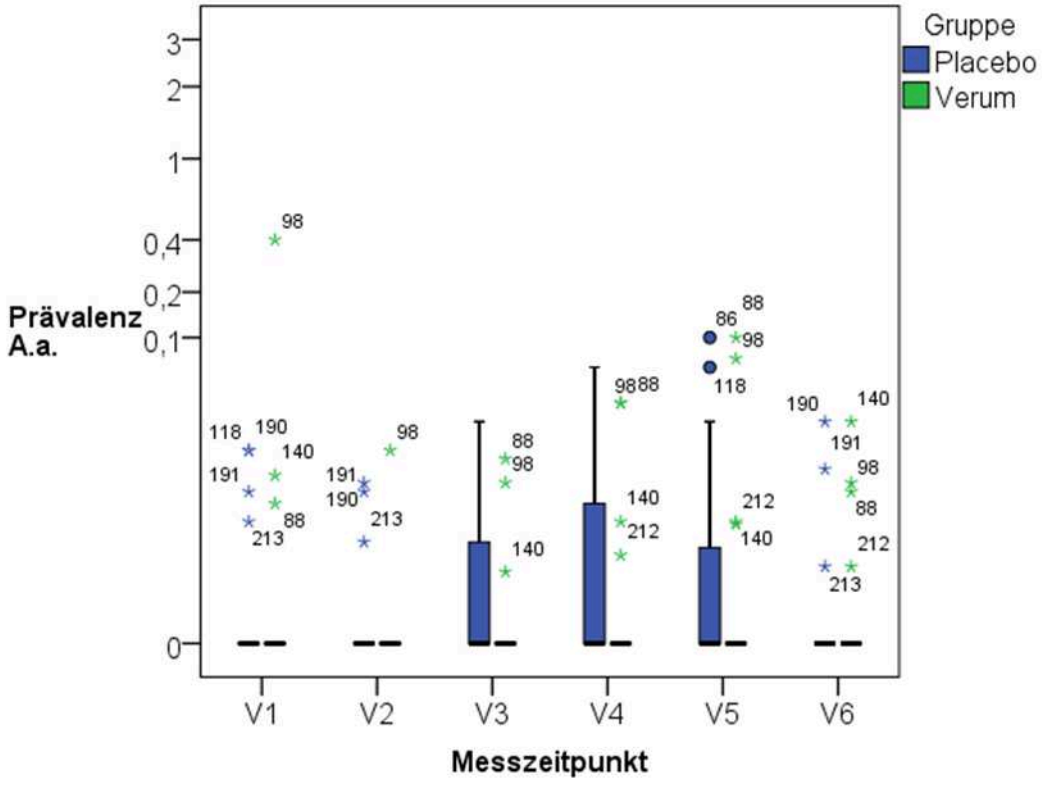

Abb. 13: Prävalenz *A.a.* (relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl) zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Boxplot-Diagramm, Y-Achse in nicht linearer Darstellung zum Exponenten 0,2

Die **Tabelle 14** und **Abb. 14** zeigen die Prävalenz von *T.d.*. Für die Placebogruppe erwies sich der Friedmann Test als nicht signifikant (chi-quadrat= 9,115; df= 5; p= 0,105). In der Verumgruppe hingegen zeigte sich eine Signifikanz (chi-quadrat= 17,412; df=5; p= 0,004), die sich im Wilcoxon Test auf einem Bonferroni-korrigierten α-Fehler-Niveau von 0,05/ 5= 0,01 in dem Vergleich V1 zu V3 (z= -2,796; p= 0,005) bestätigte. Statistisch bedeutsame Unterschiede zwischen den Gruppen konnten zu keinem Zeitpunkt ermittelt werden.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
Td_PCR_V1	17	0,006000	0,000125	0,040000	18	0,008500	0,000060	0,102500
Td_PCR_V2	17	0,001000	0,000150	0,005000	18	0,000550	0,000000	0,020000
Td_PCR_V3	17	0,000200	0,000003	0,003500	18	0,000900	0,000000	0,006250
Td_PCR_V4	17	0,000200	0,000003	0,005500	18	0,000250	0,000000	0,030000
Td_PCR_V5	17	0,000700	0,000150	0,002500	18	0,007000	0,000023	0,022500
Td_PCR_V6	17	0,001000	0,000010	0,045000	18	0,008500	0,000175	0,020000

Tabelle 14: Medianer *T.d.* Gehalt als relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an sechs Untersuchungszeitpunkten

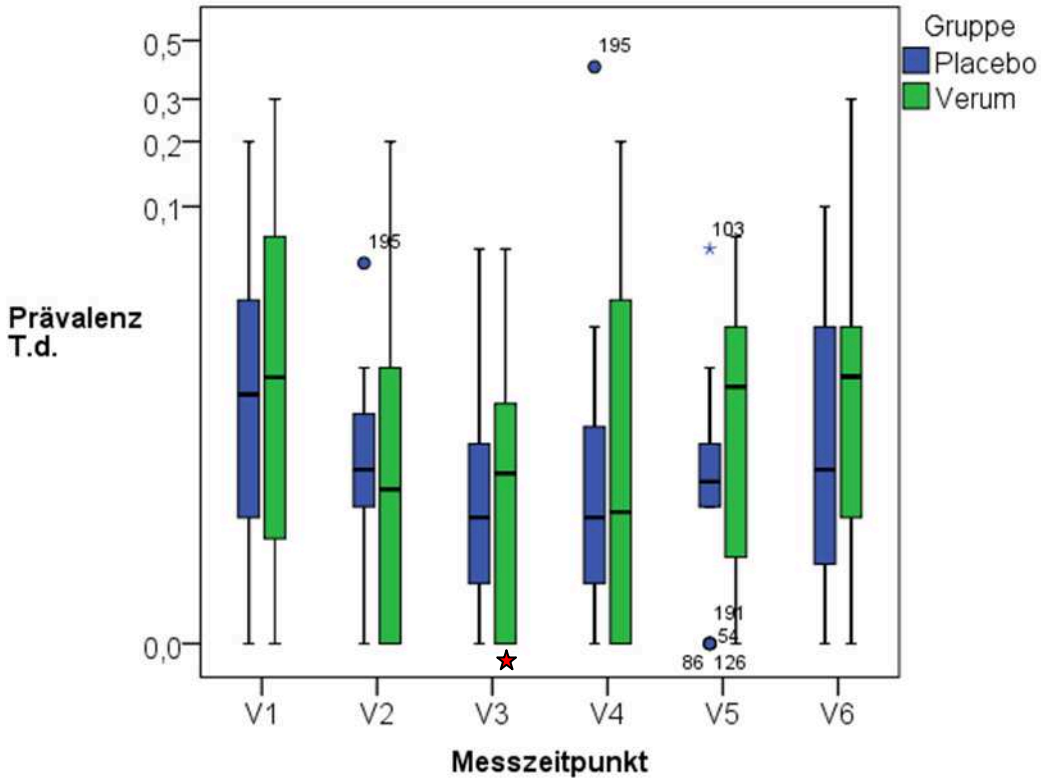

Abb. 14: Prävalenz *T.d.* (relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl) zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Boxplot-Diagramm,Y-Achse in nicht linearer Darstellung zum Exponenten 0,2; signifikanter Unterschied zu V1 gekennzeichnet durch ★

Die Werte für *T.f.* sind in der **Tabelle 15** und in dem Boxplot Diagramm **Abb. 15** abgebildet. Nach einem signifikanten Friedmann Test (chi-quadrat= 14,805; df= 5; p= 0,011) konnten in der Placebogruppe posthoc nach Wilcoxon auf einem Bonferroni-korrigierten α-Fehler-Niveau von 0,05/ 5= 0,01 eine tendenziell signifikante Reduktion von V1 zu V2 (z= -2,401; p= 0,016), eine signifikante Reduktion von V1 zu V3 (z= -3,110; p= 0,002) und V1 zu V4 (z= -2,970; p= 0,003), sowie eine tendenziell signifikante Reduktion von V1 zu V5 (z= -2,484; p= 0,013) erwiesen werden. In der Verumgruppe hingegen war der Friedmann Test nicht signifikant (chi-quadrat= 9,206; df= 5; p= 0,101).Ebenfalls konnte nach Mann-Whitney-U kein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen zu den einzelnen Messzeitpunkten nachgewiesen werden.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
Tf_PCR_V1	17	0,030000	0,000500	0,095000	18	0,014500	0,000750	0,055000
Tf_PCR_V2	17	0,004000	0,000000	0,015000	18	0,007000	0,000000	0,125000
Tf_PCR_V3	17	0,001000	0,000000	0,007000	18	0,000250	0,000000	0,035000
Tf_PCR_V4	17	0,001000	0,000000	0,010000	18	0,005000	0,000000	0,040000
Tf_PCR_V5	17	0,007000	0,000000	0,025000	18	0,015000	0,000000	0,062500
Tf_PCR_V6	17	0,003000	0,000000	0,015000	18	0,008500	0,000000	0,100000

Tabelle 15: Medianer *T.f.* Gehalt als relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an sechs Untersuchungszeitpunkten

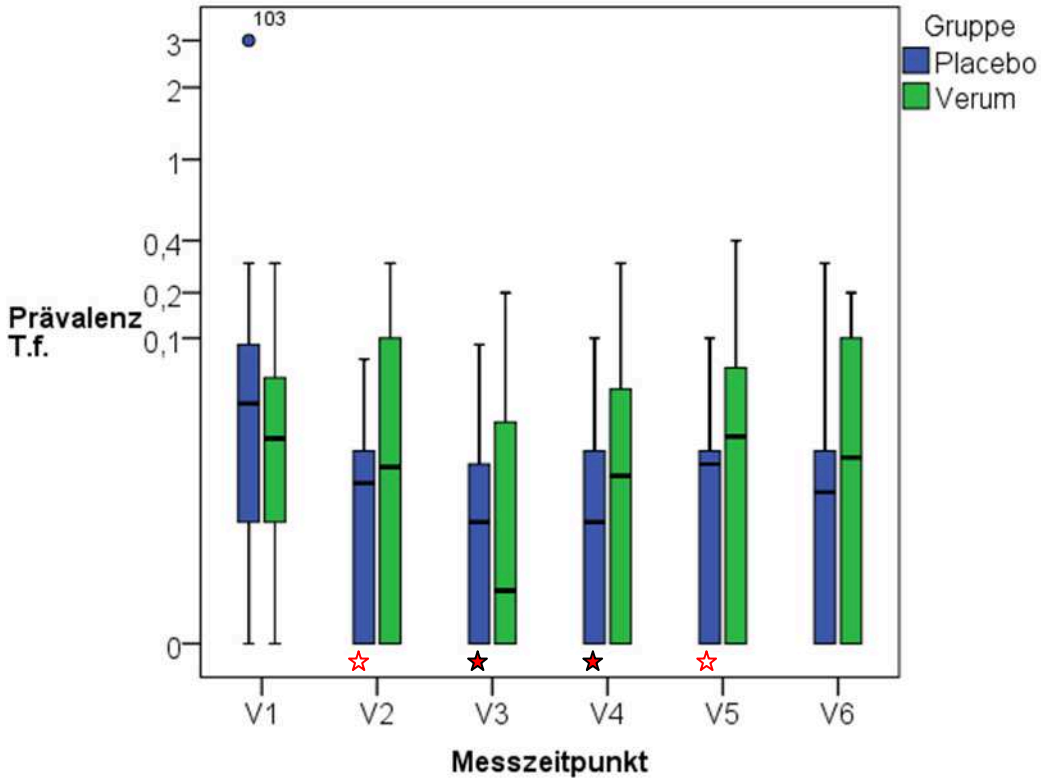

Abb. 15: Prävalenz *T.f.* (relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl) zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Boxplot-Diagramm, Y-Achse in nicht linearer Darstellung zum Exponenten 0,2; signifikanter Unterschied zu V1 gekennzeichnet durch ★, tendenziell signifikanter Unterschied zu V1 gekennzeichnet durch ☆

Für das Bakterium *P.n.* sind die Ergebnisse in der **Tabelle 16** und der **Abb. 16** dargestellt. Friedmann Tests waren für beide Gruppen höchst signifikant mit (chi-quadrat= 36,543; df = 5; p< 0,001) in der Placebogruppe und (chi-quadrat= 35,928; df= 5; p< 0,001) in der Verumgruppe. Posthoc Tests nach Wilcoxon auf einem Bonferroni-korrigierten α-Fehler-Niveau von 0,05/ 5= 0,01 zeigten in der Placebogruppe eine signifikante Reduktion von *P.n.* von V1 zu V2 (z= -3,409; p= 0,001) und V1 zu V3 (z= -2,574; p= 0,01). In der Verumgruppe war die Reduktion von V1 zu V2 tendenziell signifikant (z= -2,355; p= 0,019) und im Vergleich vom Ausgangswert zu V3 (z= -3,233; p= 0,001) und V4 (z= -2,606; p= 0,009) signifikant reduziert.

Zwischen den Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied getestet werden.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
Pn_PCR_V1	17	0,100000	0,015000	2,000000	18	0,200000	0,001500	2,000000
Pn_PCR_V2	17	0,010000	0,000000	0,100000	18	0,004000	0,000000	0,200000
Pn_PCR_V3	17	0,020000	0,000000	0,050000	18	0,001500	0,000000	0,010000
Pn_PCR_V4	17	0,040000	0,015000	0,150000	18	0,007000	0,000000	0,125000
Pn_PCR_V5	17	0,200000	0,040000	0,700000	18	0,075000	0,005250	0,875000
Pn_PCR_V6	17	0,600000	0,015000	1,000000	18	0,350000	0,000000	1,250000

Tabelle 16: Medianer *P.n.* Gehalt als relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an sechs Untersuchungszeitpunkten

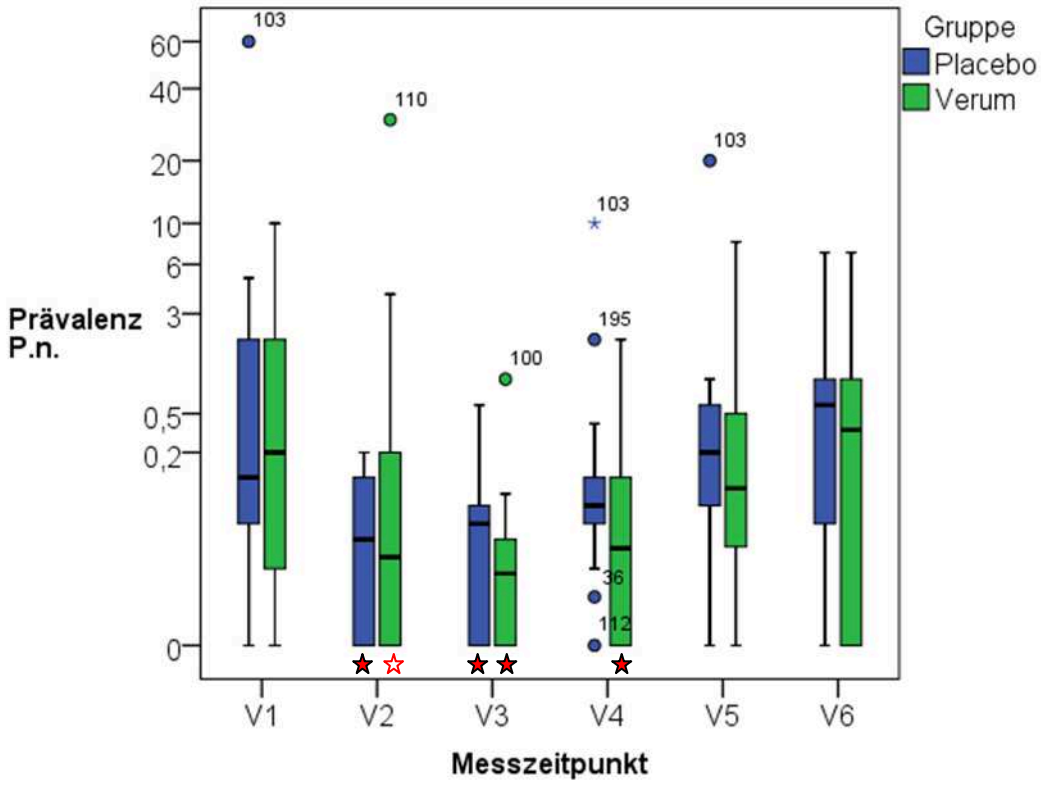

Abb. 16: Prävalenz *P.n.* (relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl) zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Boxplot-Diagramm, Y-Achse in nicht linearer Darstellung zum Exponenten 0,2; signifikante Unterschiede zu V1 sind gekennzeichnet durch ★, tendenziell signifikante Unterschiede zu V1 sind gekennzeichnet durch ☆

In der **Tabelle 17** und **Abb. 17** sind die Ergebnisse für *P.i.* festgehalten. Friedmann Tests waren für Unterschiede innerhalb der Placebogruppe (chi-quadrat= 9,783, df= 5; p= 0,082) und Verumgruppe (chi-quadrat= 7,867, df= 5; p= 0,164) nicht signifikant. Ebenfalls konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen nach Mann-Whitney-U festgestellt werden.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
Pi_PCR_V1	17	0,000000	0,000000	0,012500	18	0,000540	0,000000	0,110000
Pi_PCR_V2	17	0,000070	0,000000	0,000900	18	0,000050	0,000000	0,003000
Pi_PCR_V3	17	0,000000	0,000000	0,002450	18	0,000050	0,000000	0,004500
Pi_PCR_V4	17	0,000000	0,000000	0,002000	18	0,000205	0,000000	0,010000
Pi_PCR_V5	17	0,000010	0,000000	0,005000	18	0,000120	0,000000	0,022000
Pi_PCR_V6	17	0,000040	0,000000	0,000900	18	0,000000	0,000000	0,025000

Tabelle 17: Medianer *P.i.* Gehalt als relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an sechs Untersuchungszeitpunkten

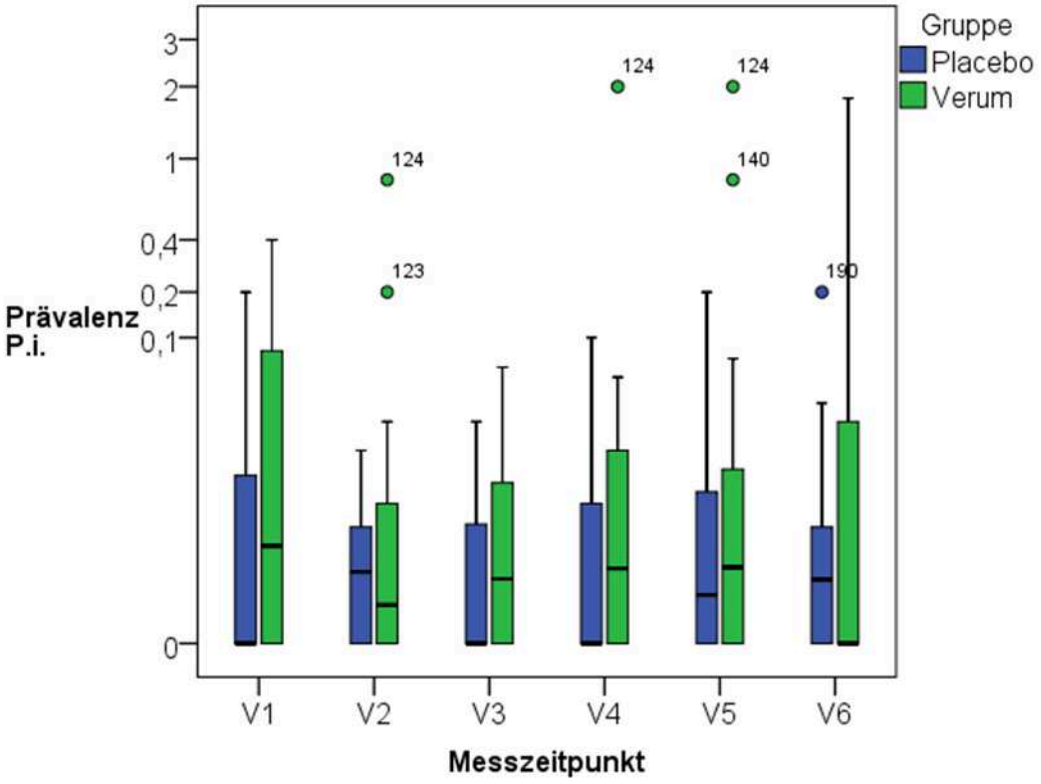

Abb. 17: Prävalenz *P.i.* (relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl) zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Boxplot-Diagramm, Y-Achse in nicht linearer Darstellung zum Exponenten 0,2

Folgende **Tabelle 18** und **Abb. 18** zeigen die Werte für *E.c.*. Nach einem höchst signifikanten Friedmann Test (chi-quadrat= 25,026; df= 5; p< 0,001) konnte posthoc mit einem Wilcoxon Test auf einem Bonferroni-korrigierten α-Fehler-Niveau von 0,05/ 5= 0,01 eine signifikante Reduktion von *E.c.* in der Placebogruppe von V1 zu V2 (z= -3,434; p= 0,001) gezeigt werden. Als tendenziell signifikant kann die Reduktion von V1 zu V3 (z= -2,545; p= 0,011) gesehen werden.

In der Verumgruppe erwies sich der Friedmann Test ebenfalls als höchst signifikant (chi-quadrat= 33,729, df= 5; p< 0,001). Hierbei lag eine signifikante Reduktion posthoc auf einem Bonferroni-korrigierten α-Fehler-Niveau von 0,05/ 5= 0,01 bei V2 (z= -3,680; p< 0,001) und V4 (z= -2,682; p= 0,007) vor.

Zwischen den Gruppen gab es zu keinem Messzeitpunkt einen signifikanten Unterschied.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
Ec_PCR_V1	17	0,800000	0,350000	2,000000	18	0,400000	0,175000	1,000000
Ec_PCR_V2	17	0,100000	0,020000	0,300000	18	0,055000	0,010000	0,110000
Ec_PCR_V3	17	0,300000	0,045000	1,000000	18	0,350000	0,045000	0,725000
Ec_PCR_V4	17	0,200000	0,075000	0,800000	18	0,200000	0,077500	0,325000
Ec_PCR_V5	17	0,200000	0,090000	0,700000	18	0,150000	0,065000	0,725000
Ec_PCR_V6	17	0,500000	0,300000	1,500000	18	0,300000	0,100000	1,000000

Tabelle 18: Medianer *E.c.* Gehalt als relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an sechs Untersuchungszeitpunkten

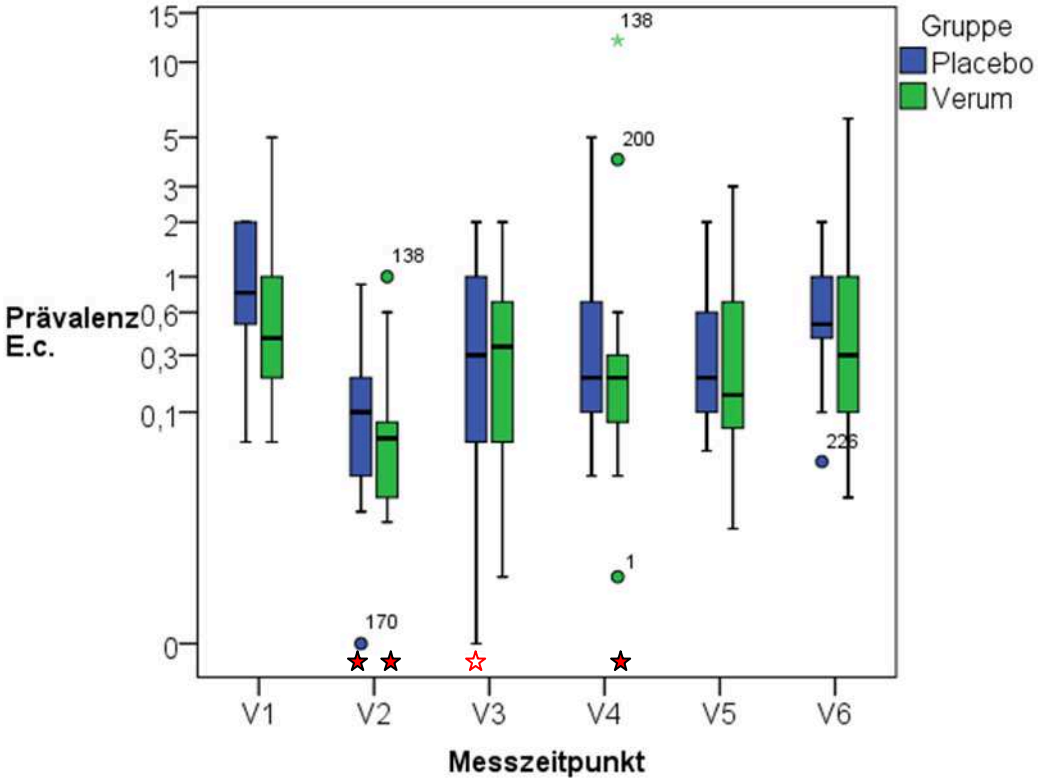

Abb. 18: Prävalenz *E.c.* (relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl) zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Boxplot-Diagramm, Y-Achse in nicht linearer Darstellung zum Exponenten 0,2; signifikanter Unterschied zu V1 gekennzeichnet durch ★, tendenziell signifikanter Unterschied zu V1 gekennzeichnet durch ☆

Für den kariogenen *S.mutans* liegen die Ergebnisse in der **Tabelle 19** und **Abb. 19** vor. Innerhalb der Placebogruppe konnte kein signifikanter Unterschied detektiert werden (chi-quadrat= 7,845; df= 5; p= 0,165). Das gleiche Resultat lieferte der Friedmann Test für die Verumgruppe (chi-quadrat= 6,454; df= 5; p= 0,265). Auch fiel der Vergleich zwischen den Gruppen nicht signifikant aus.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
Str.mutans_PCR_V1	17	0,010000	0,000000	0,020000	18	0,004000	0,000000	0,150000
Str.mutans_PCR_V2	17	0,003000	0,000000	0,009000	18	0,001500	0,000000	0,012500
Str.mutans_PCR_V3	17	0,007000	0,000000	0,030000	18	0,001300	0,000000	0,014250
Str.mutans_PCR_V4	17	0,003000	0,000000	0,045000	18	0,004000	0,000000	0,032500
Str.mutans_PCR_V5	17	0,005000	0,000000	0,030000	18	0,008500	0,000675	0,022500
Str.mutans_PCR_V6	17	0,005000	0,000000	0,025000	18	0,005000	0,000000	0,077500

Tabelle 19: Medianer *S.mutans* Gehalt als relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an sechs Untersuchungszeitpunkten

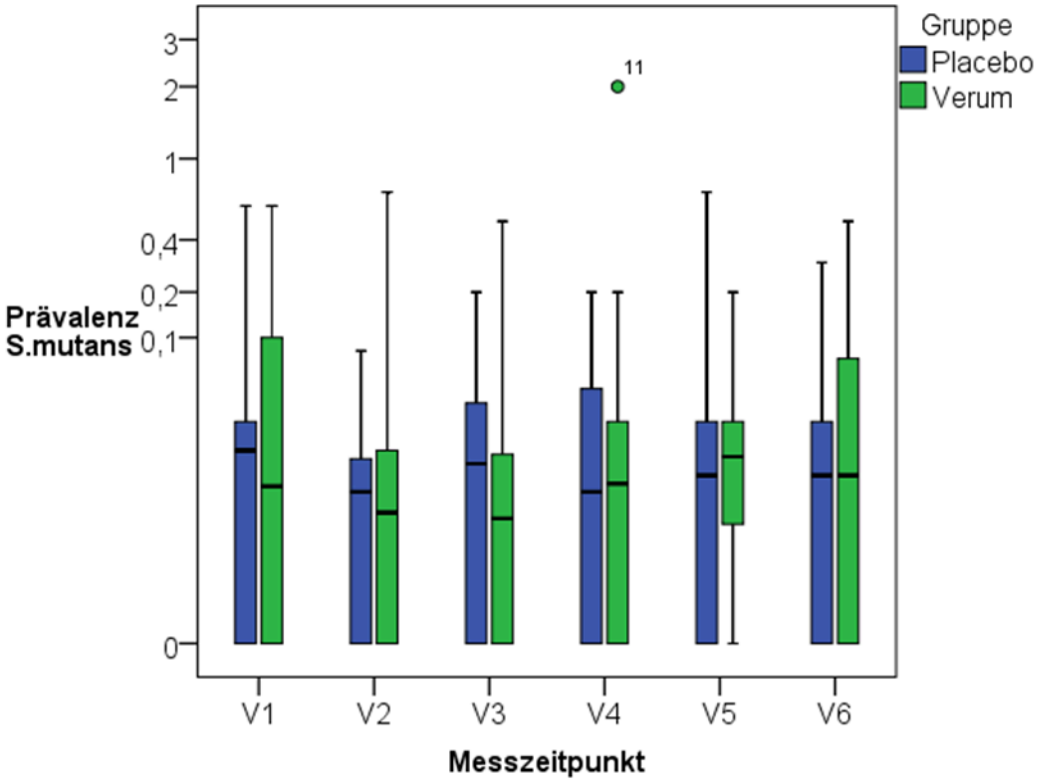

Abb. 19: Prävalenz *S.mutans* (relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl) zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Boxplot-Diagramm, Y-Achse in nicht linearer Darstellung zum Exponenten 0,2

Für den intraoralen Hefepilz *C.albicans* sind die Daten in den **Tabellen 20** und **21**, sowie in der Abb. 20 dargestellt.

Der Anteil an *C.albicans* positiven Patienten im Ausgangsbefund betrug in der Placebogruppe 23,5% (4 von 17 Patienten) und in der Verumgruppe 38,9% (7 von 18 Patienten).

	Messwert	
	0 = „nicht vorhanden“	**1 = „vorhanden“**
Candida_PCR_V1_ITT	13	4
Candida_PCR_V2_ITT	13	4
Candida_PCR_V3_ITT	13	4
Candida_PCR_V4_ITT	14	3
Candida_PCR_V5_ITT	13	4
Candida_PCR_V6_ITT	14	3

Tabelle 20: Häufigkeiten konkreter Messwerte für *C.albicans* Gruppe= Placebo

	Messwert	
	0 = „nicht vorhanden“	**1 = „vorhanden“**
Candida_PCR_V1_ITT	11	7
Candida_PCR_V2_ITT	13	5
Candida_PCR_V3_ITT	12	6
Candida_PCR_V4_ITT	12	6
Candida_PCR_V5_ITT	12	6
Candida_PCR_V6_ITT	14	4

Tabelle 21: Häufigkeiten konkreter Messwerte für *C.albicans* Gruppe= Verum

Mittels eines Cochran’s-Q-Tests konnte gezeigt werden, dass sich der Befall mit *C.albicans* in der Placebogruppe (N = 17) über die 6 Messzeitpunkte hinweg nicht signifikant veränderte (Cochran’s Q = 4,00, df = 5, p = 0,549).

In der Verumgruppe (N= 18) präsentierte der Cochran’s-Q-Test über die Messzeitpunkte hinweg nur eine marginal signifikante Veränderung (Cochran’s Q = 8,889, df = 5, p = 0,114) für den Befall mit *C.albicans*. Für den Vergleich zwischen den beiden Gruppen zeigten exakte Fisher-Tests, dass sich die Anteile an *C.albicans* positiven Probanden zwischen der Verum- und Placebogruppe zu allen Messzeitpunkten nicht signifikant voneinander unterschieden (V1 p= 0,471; V2 p= 1,00; V3 p= 0,71, V4 p= 0,443; V5 p= 0,711; V6 p= 1,00).

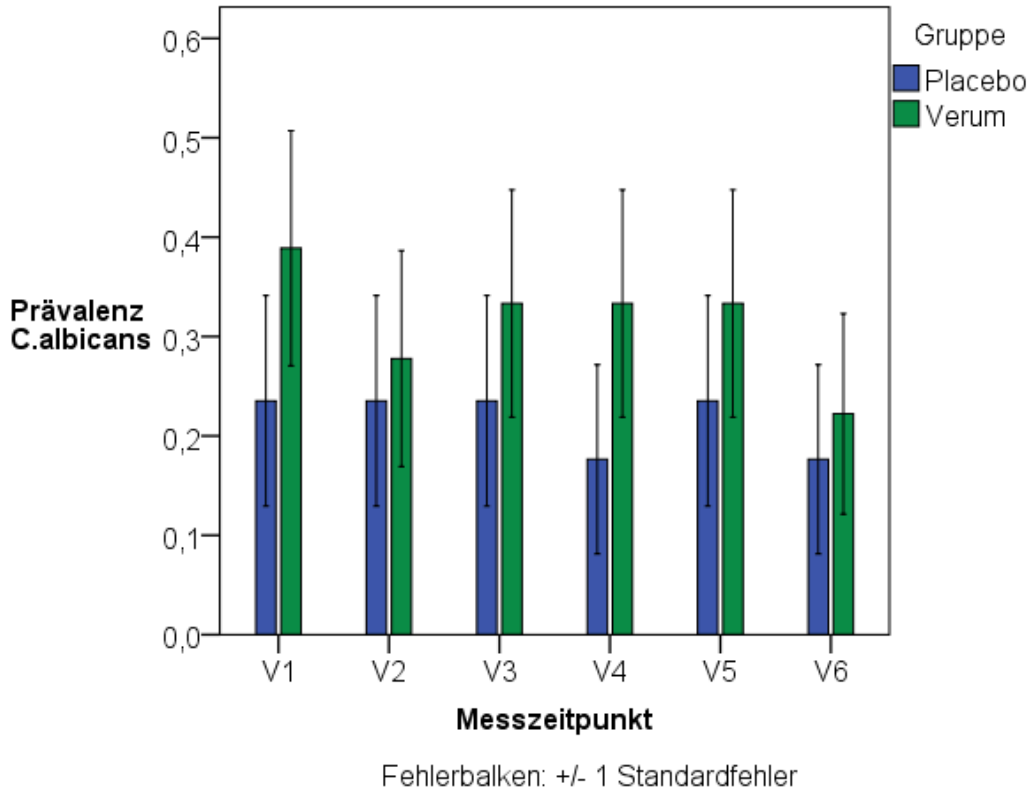

Abb. 20: Dichotome Prävalenz *C.albicans* zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Balkendiagramm

Zusammenfassend kam es zu keinem signifikanten Prävalenzanstieg der getesteten oralpathogenen Mikroorganismen. Die Anwendung der Placebolösung in Kombination mit einer professionellen Zahnreinigung führte im Gegensatz zur Verumlösung zu einer signifikanten Reduktion von *T.f.* an V3 und V4. Die jeweilige untersuchte Mundspüllösung bewirkte jedoch zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

3.4.3 Prävalenz kommensaler Bakterien

Für das Bakterium *S.sang.* sind die Ergebnisse in der **Tabelle 22** und der **Abb. 21** dargestellt. Innerhalb der Placebogruppe konnten nach einem Friedmann Test keine signifikanten Unterschiede über den zeitlichen Verlauf festgestellt werden (chi-quadrat= 4,548; df= 5; p= 0,473).Für die Verumgruppe erwies sich zwar der Friedmann Test als hoch signifikant (chi-quadrat= 18,309; df= 5; p= 0,003), jedoch konnte posthoc der Wilcoxon Test keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zum Ausgangswert V1 aufzeigen. Auch zwischen den Gruppen konnten nach Mann-Whitney-U keine signifikanten Unterschiede detektiert werden.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
S.sang._PCR_V1	17	0,003000	0,000000	0,175000	18	0,000000	0,000000	0,055000
S.sang._PCR_V2	17	0,005000	0,000000	0,027500	18	0,000000	0,000000	0,004250
S.sang._PCR_V3	17	0,020000	0,000000	0,200000	18	0,000000	0,000000	0,275000
S.sang._PCR_V4	17	0,020000	0,000000	0,200000	18	0,000000	0,000000	0,350000
S.sang._PCR_V5	17	0,010000	0,000000	0,175000	18	0,000000	0,000000	0,500000
S.sang._PCR_V6	17	0,010000	0,000000	0,175000	18	0,000000	0,000000	0,042500

Tabelle 22: Medianer *S.sang.* Gehalt als relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an sechs Untersuchungszeitpunkte

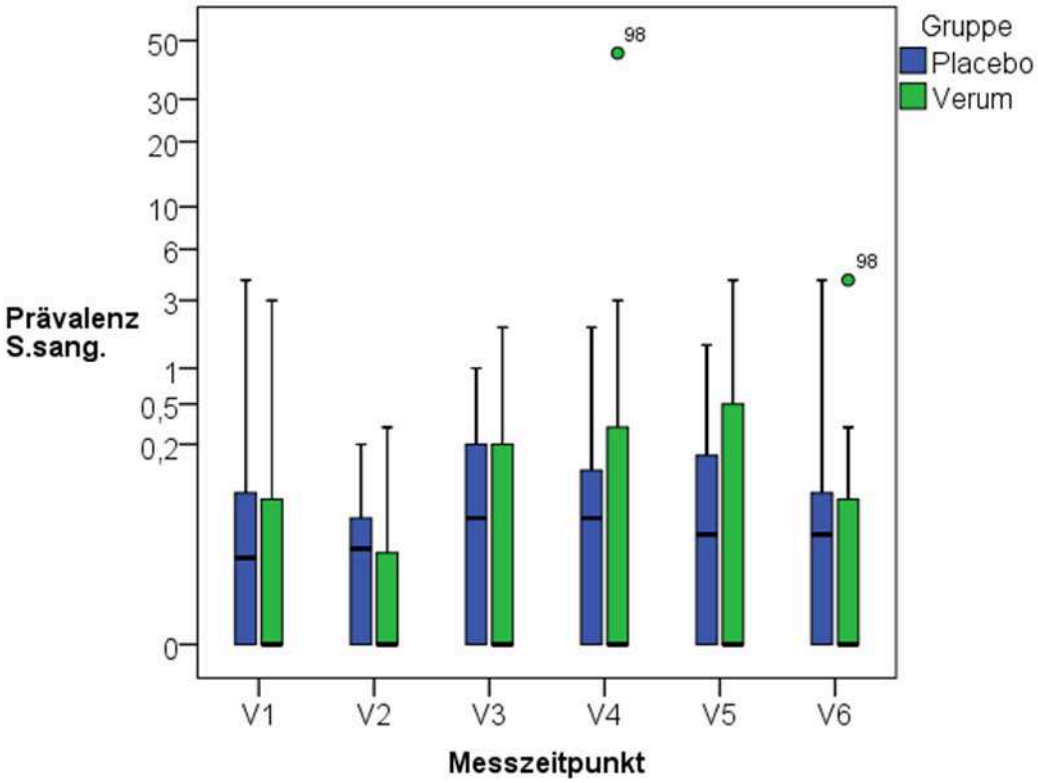

Abb. 21: Prävalenz *S.sang.* (relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl) zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Boxplot-Diagramm, Y-Achse in nicht linearer Darstellung zum Exponenten 0,2

Die **Tabelle 23** und die **Abb. 22** zeigen die Werte für den kommensalen Keim *S.mitis.* Durch den Friedmann Test konnten innerhalb der Placebogruppe keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden (chi-quadrat= 4,527; df= 5; p= 0,476). Für die Verumgruppe fiel der Test hingegen signifikant aus (chi-quadrat= 11,412; df= 5; p= 0,044). Im posthoc Test konnte jedoch im Vergleich der einzelnen Ergebnisse zum Ausgangsbefund keine Signifikanz festgestellt werden. Der

Vergleich zwischen der Placebo- und Verumgruppe fiel ebenfalls nicht signifikant aus.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
S.mitis_PCR_V1	17	8,000000	4,500000	15,500000	18	6,500000	3,500000	25,000000
S.mitis_PCR_V2	17	6,000000	3,000000	11,500000	18	6,000000	2,000000	11,250000
S.mitis_PCR_V3	17	8,000000	5,000000	18,000000	18	9,000000	4,750000	12,750000
S.mitis_PCR_V4	17	7,000000	5,000000	15,000000	18	6,000000	3,000000	13,500000
S.mitis_PCR_V5	17	8,000000	5,500000	16,000000	18	6,000000	3,000000	10,000000
S.mitis_PCR_V6	17	9,000000	2,000000	14,500000	18	9,000000	6,750000	16,250000

Tabelle 23: Medianer *S.mitis* Gehalt als relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an sechs Untersuchungszeitpunkten

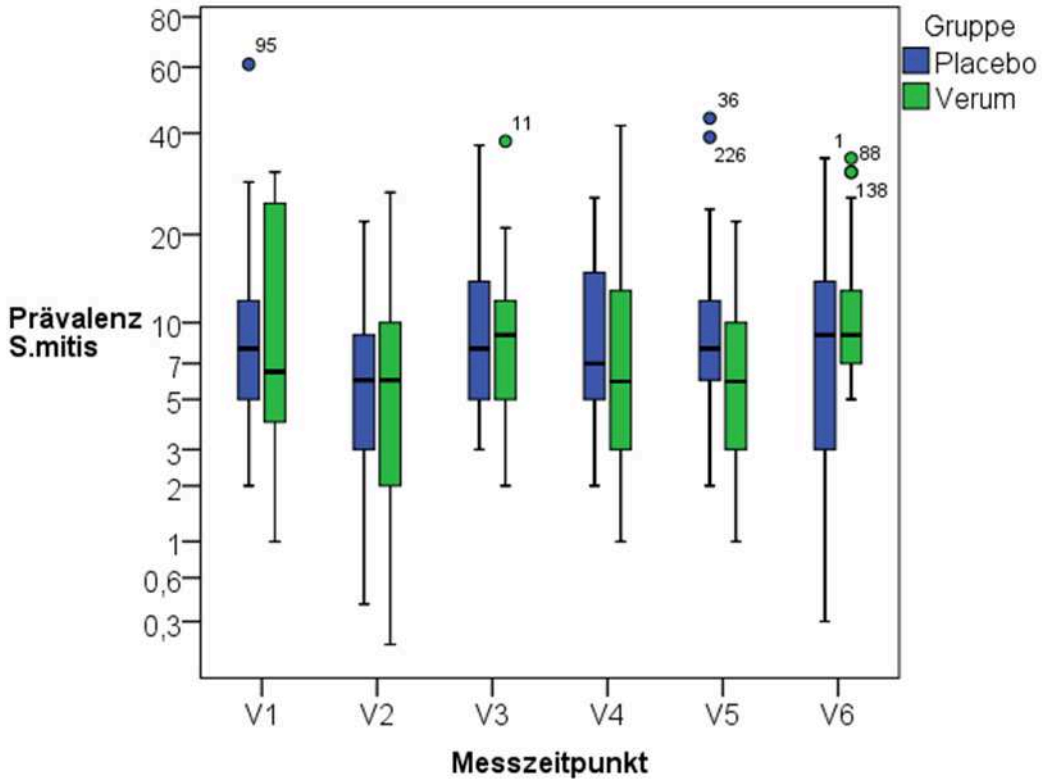

Abb. 22: Prävalenz *S.mitis* (relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl) zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Boxplot-Diagramm, Y-Achse in nicht linearer Darstellung zum Exponenten 0,2

Der Werteverlauf der Veill. ist in der **Tabelle 24** und **Abb. 23** dargestellt. Ein höchst signifikantes Ergebnis lieferte der Friedmann Test in der Placebogruppe (chi-quadrat= 39,556; df= 5; p< 0,001). Dabei zeigte sich im posthoc Test nach Wilcoxon auf einem Bonferroni-korrigierten α-Fehler-Niveau von 0,05/ 5= 0,01, dass es zum Zeitpunkt V2 eine signifikante Reduktion gab (z= -3,148; p= 0,002). An V3 und V4 stieg die Prävalenz von Veill. wieder an und an V5 war sie sogar tendenziell signifikant erhöht im Vergleich zu V1 (z= -2, 480; p= 0,013). Für die Verumgruppe war der Friedmann Test ebenfalls höchst signifikant (chi-quadrat= 37,156; df= 5; p< 0,001). Eine signifikante Reduktion auf dem Bonferroni-korrigierten α-Fehler-Niveau von 0,05/ 5= 0,01 im Wilcoxon Test war an V2 ersichtlich (z= -3,724; p< 0,001). Zum Zeitpunkt V3 stieg die Prävalenz wieder an, um an V4 (z= -3,235; p= 0,001) signifikant und an V5 (z= -2,556; p= 0,011) tendenziell signifikant erhöht zu sein. Der Vergleich zwischen den beiden Probandengruppen lieferte keinen signifikanten Unterschied in der Werteentwicklung.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
Veill._PCR_V1	17	0,200000	0,025000	3,000000	18	0,400000	0,200000	0,950000
Veill._PCR_V2	17	0,040000	0,003750	0,350000	18	0,035000	0,004250	0,100000
Veill._PCR_V3	17	0,600000	0,115000	3,500000	18	0,500000	0,175000	2,250000
Veill._PCR_V4	17	0,700000	0,220000	10,000000	18	1,000000	0,350000	9,250000
Veill._PCR_V5	17	3,000000	0,100000	8,000000	18	2,000000	0,250000	7,500000
Veill._PCR_V6	17	0,900000	0,120000	4,500000	18	0,750000	0,475000	3,500000

Tabelle 24: Medianer *Veill.* Gehalt als relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an sechs Untersuchungszeitpunkten

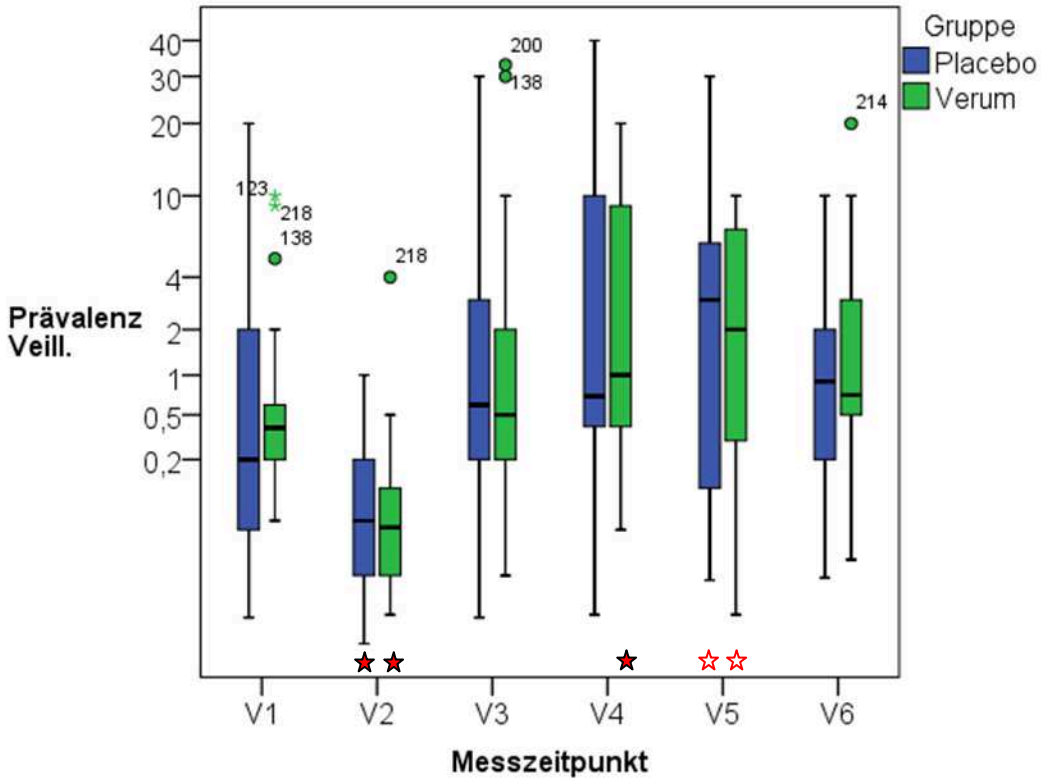

Abb. 23: Prävalenz *Veill.* (relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl) zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Boxplot-Diagramm, Y-Achse in nicht linearer Darstellung zum Exponenten 0,2; signifikanter Unterschied zu V1 gekennzeichnet durch ★ , tendenziell signifikante Unterschiede gekennzeichnet durch ☆

Für die *Act.*-Spezies werden die Ergebnisse in folgender **Tabelle 25** und **Abb. 24** präsentiert. Die Friedmann Tests sind weder in der Placebogruppe (chi-quadrat= 8,178; df= 5; p= 0,147), noch in der Verumgruppe (chi-quadrat= 7,319; df= 5; p= 0,198) signifikant. Ebenfalls konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen im Mann-Whitney-U Test berichtet werden.

	Gruppe							
	Placebo				Verum			
	N	Median	Perzentile		N	Median	Perzentile	
	Gültig		25	75	Gültig		25	75
Act._PCR_V1	17	5,000000	3,000000	11,500000	18	5,000000	2,750000	14,000000
Act._PCR_V2	17	6,000000	3,500000	9,000000	18	5,000000	2,000000	7,500000
Act._PCR_V3	17	6,000000	2,500000	9,000000	18	6,000000	3,000000	12,500000
Act._PCR_V4	17	6,000000	3,000000	9,500000	18	7,500000	3,750000	12,250000
Act._PCR_V5	17	6,000000	3,000000	11,000000	18	8,000000	4,750000	12,250000
Act._PCR_V6	17	7,000000	4,000000	17,500000	18	8,500000	6,000000	14,250000

Tabelle 25: Medianer *Act.* Gehalt als relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl und Streuwerte (25. und 75. Perzentile) in der Verum- und Placebogruppe an sechs Untersuchungszeitpunkten

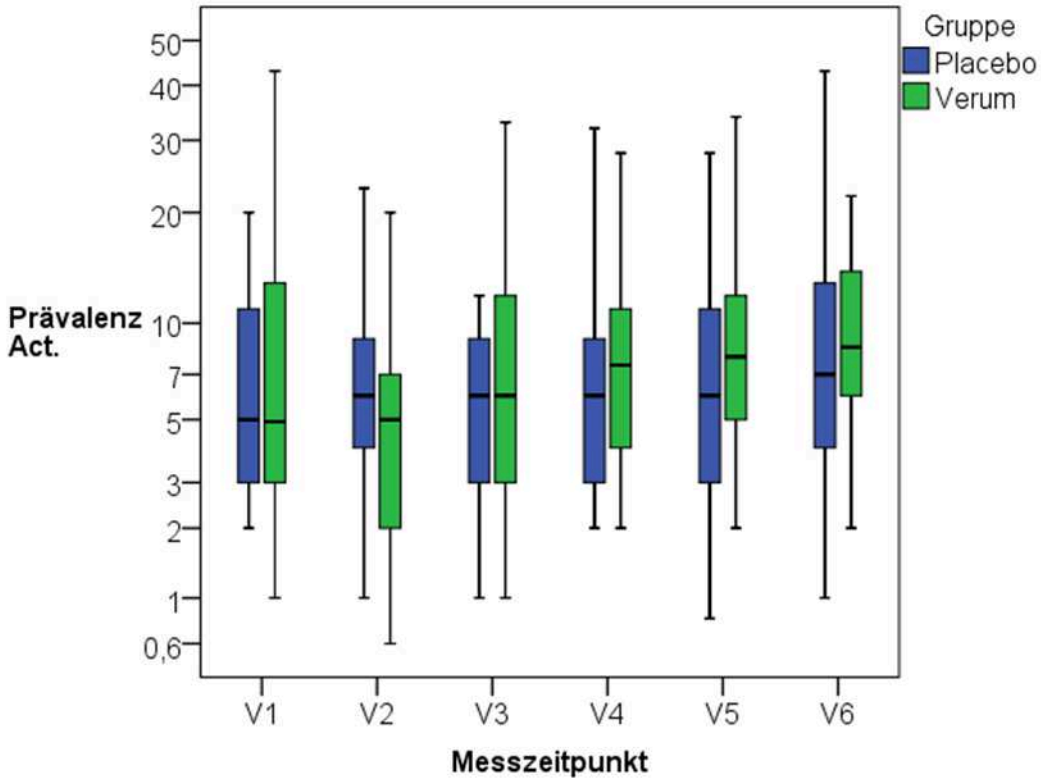

Abb. 24: Prävalenz *Act.* (relativer Anteil zur Gesamtkeimzahl) zu den jeweiligen Messzeitpunkten im Boxplot-Diagramm, Y-Achse in nicht linearer Darstellung zum Exponenten 0,2

Zusammenfassend führte die Anwendung von dem Verum und Placebo zu keiner signifikanten Veränderung der Prävalenz von *S.sang, S.mitis* und *Act..* Bei den Veill. bewirkte die professionelle Zahnreinigung an V2 in beiden Gruppen eine signifikante Reduktion.

3.5 Cytopathologische Ergebnisse

Die Anwendung der beiden Mundspüllösungen hatte bei keinem der Probanden zu sichtbaren klinischen Mundschleimhautveränderungen geführt. Bei der histologischen Auswertung der Bürstenbiopsien konnten bei einem Probanden aus der Placebogruppe (SA 190 an V5) entartete Zellen nicht zweifelsfrei ausgeschlossen werden (siehe Anhang **Tabelle 41**). Eine Kontrolluntersuchung nach 3 Monaten ergab keinen weiteren Anhalt auf Dysplasie. Da es in der gesamten Stichprobe somit nur einen einzigen Fall von cytopathologischen Veränderungen gegeben hat, ist es hier nicht möglich einen Signifikanztest zu rechnen.

Zusammenfassend gilt RA1 somit als nicht cytotoxisch in der klinischen Anwendung für 7 Tage.

4 Diskussion

4.1 Fragestellung

In der vorliegenden Studie wurde erstmalig klinisch untersucht werden, inwiefern ein Sauerampferextrakt in der Darreichungsform als Mundspüllösung adhäsionshemmend auf das parodontopathogene Bakterium *P.g.* und cytoprotektiv wirkt.

Aufgrund des innovativen Charakters dieser Pilotstudie sind keine Vergleichsstudien *in vivo* mit RA als Wirkstoff bekannt. Somit kann ein dezidierter Vergleich mit den Ergebnissen und dem Studiendesign anderer Autoren nur eingeschränkt erfolgen, da unterschiedliche pflanzliche Wirkstoffe in ihrer intraoralen Anwendung verglichen werden müssen.

4.2 Material und Methode

4.2.1 Probanden

Von 249, den Ein- und Ausschlusskriterien entsprechenden, gescreenten freiwilligen Personen nahmen final 35 Probanden im Alter von 22 bis 69 Jahren an dieser klinischen Studie teil. Da der Untersuchungsschwerpunkt die Veränderung der Prävalenz von *P.g.* war, wurde keine weitere Stratifizierung nach Alter, Geschlecht, Zahnzahl, Raucher- und Mundhygienestatus durchgeführt. Die Verteilung auf die Verum- und Placebogruppe erfolgte rein zufällig und resultierte in einer statistisch gesehenen Gleichverteilung beider Gruppen.

Interessanterweise lag die *P.g.* Prävalenz in der Gesamtstudienpopulation bei nur 16,9%. Puig-Silla et al. (2011) konnte bei 27% der parodontal Gesunden *P.g.* durch PCR nachweisen, bei Kononen et al. (2007) lag der Wert bei 23% und bei Griffen et al. (1998) bei 25% mittels gleichem mikrobiologischen Nachweisverfahren. Durch indirekte Immunfluoreszenz konnte ebenfalls in einer gesunden Vergleichsgruppe *P.g.* zu 23,1% detektiert werden (Yang, Huang et al. 2004). Einen deutlich kleineren Wert von 10,6% wiesen van Winkelhoff et al. (2002) durch anaerobe Kultivierung nach, dieses liegt jedoch wahrscheinlich in der geringeren Sensitivität der angewandten Nachweismethode begründet.

Geht man demnach von einer durchschnittlichen Prävalenz von 25% in der parodontal gesunden Bevölkerung aus, hätten für diese Studie nur etwa 160

Probanden gescreent werden müssen, um die erforderlichen 40 *P.g.* Träger zu erhalten. Warum die *P.g.* Prävalenz in dieser Studie unterhalb der Werte von denen anderer Autoren lag, die ebenfalls Plaqueproben mittels PCR analysiert haben, lässt sich aufgrund der unterschiedlichen Altersstruktur der Probandenpopulationen erklären. Nach Könönen et al. (2007) besteht eine starke Assoziation zwischen dem Alter und der *P.g.* Prävalenz. Ein überproportional hoher Anteil an Probanden zwischen 18 und 39 Jahre (n= 193 von 249) wurde in der vorliegenden Studie untersucht und eine *P.g.* Prävalenz von 11,9% ermittelt. Für die Altersgruppe zwischen 40 und 59 Jahre (n= 47 von 249) stieg die Prävalenz bereits auf 25,5%, und bei den über 60-Jährigen (n=9 von 249) lag sie bei 77,8%. Demnach konnte diese Studie ebenfalls einen hoch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Alter der Probanden und dem intraoralen Vorkommen von *P.g.* ($p< 0,001$) nachweisen. Bei Yang et al. (2004) waren die gesunden Kontrollprobanden gleichmäßig auf die einzelnen Altersstufen verteilt gewesen und bei Puig-Silla et al. (2011) und Griffen et al. (1998) lag das Durchschnittsalter der Probanden mit 40 respektive 49 Jahren deutlich über dem in dieser Studie mit nur 33 Jahren.

Demnach hätte für diese Studie forcierter in der Altersklasse über 40 Jahren gescreent werden müssen, um die geforderte Probandenzahl von 40 Personen schneller erreichen zu können. Dem entgegengesetzt steht aber die hohe Prävalenz an Parodontalerkrankungen bei den über 35-Jährigen (Micheelis and Schiffner 2006).

4.2.2 Studiendesign

In der vorliegenden klinisch kontrollierten Studie hätte sich auch ein Crossover-Versuchsdesign angeboten. Dieses hat den Vorteil gegenüber Versuchen mit Parallelgruppen, dass jeder Proband als seine eigene Kontrolle dient. Es besteht Vergleichbarkeit zwischen der Test- und Kontrollgruppe hinsichtlich konfundierter Variablen und zeichnet sich durch eine hohe Power der durchgeführten Signifikanztests aus, da man unter gleich strikten Anforderungen mit geringeren Fallzahlen auskommt (Wellek and Blettner 2012).

Da jedoch noch keine Erfahrungswerte hinsichtlich des „Carryover“-Effektes von RA1, möglicher Nebenwirkungen und geschmacklicher Eigenschaften des Verum

und Placebo bestanden, wurde diese Studie im Parallelgruppen-Versuch durchgeführt.

Ein weiterer Grund für ein doppelblindes und randomisiertes Studiendesign war es, mögliche Einflüsse auf Seiten des Untersuchers und der Probanden auszuschließen. Eine Unterscheidbarkeit beider Lösungen war nicht möglich, da die Abfüllung in gleichen Flaschen erfolgte und eine dem Verum in Geruch und Geschmack angepasste Placebolösung verwendet wurde. Trotz der geringen Gruppengröße von jeweils n= 17 und n= 18 und der zufälligen Aufteilung konnte eine statistische Gleichverteilung zwischen der Verum- und Placebogruppe in Bezug auf Alter, Geschlecht, Raucherstatus, Zahnzahl und Mundhygienestatus erzielt werden. Sogar in den Ausgangswerten der zu untersuchenden oralen Mikroorganismen gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Um eine Methode zur Überprüfung der Wirksamkeit einer Mundspüllösung und deren Ergebnisse besser validieren zu können, sollte möglichst gegen eine positive und negative Kontrolllösung getestet werden (Netuschil, Hoffmann et al. 2003). Dabei hat sich in den vergangenen Jahren 0,2%iges Chlorhexidindigluconat aufgrund seiner nachgewiesenen unspezifischen bakteriostatischen und somit Plaque-hemmenden Wirksamkeit als Goldstandard durchgesetzt (Varoni, Tarce et al. 2012). Da jedoch in dieser Studie nicht der generelle antimikrobielle Effekt, sondern alleinig die Antiadhäsivität gegenüber *P.g.* im Fokus stand und in diesem Anwendungsbereich noch keine vergleichbaren, dokumentierten Lösungen existieren, wurde auf die Positivkontrollgruppe mit Chlorhexidindigluconat verzichtet. Gleichsam ist darauf hinzuweisen, dass die beobachteten antiadhäsiven Effekte bereits bei geringer Konzentration an Proanthocyanidinen auftraten, bei der noch keine cytotoxischen und antibakteriellen Wirkungen *in vitro* zu verzeichnen waren (Löhr 2010). Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte wurde auch die Zusammensetzung der Testmundspüllösung entwickelt.

Des Weiteren diente als Negativkontrolle in vielen Studien eine Mundspüllösung aus aromatisiertem *aqua dest.* oder physiologischer Kochsalzlösung (Weiger, Netuschil et al. 1998; Bhadbhade, Acharya et al. 2011; Signoretto, Burlacchini et al. 2011). In dieser Studie glich die Placebolösung, bis auf das Fehlen von RA1, den Grundinhaltsstoffen der Verumlösung. Unterschiede der Ergebnisse zwischen

den beiden Gruppen waren somit allein auf das Wirkpotential von RA1 zurückzuführen. Durch ein ähnliches Studiendesign mit einer vergleichbaren Zusammensetzung der Test- und Kontrollmundspüllösung konnte z.B. der Effekt von Teebaumöl auf Plaque- und Blutungsindices verdeutlicht werden (Saxer, Stauble et al. 2003).
Die Verum und Placebolösung enthielten beide 6,4 Massenteile 96%igen Ethanols. Diesem Alkohol konnte erst eine Reduktion des Biofilmwachstums ab einer Konzentration von 40% und periodischen Einwirkzeit von 15min nachgewiesen werden (Sissons, Wong et al. 1996). Andere Autoren wiesen keine plaquehemmende Aktivität nach (Gjermo, Baastad et al. 1970). Demnach konnte in beiden Gruppen eine Beeinflussung des oralen Biofilms aufgrund des Ethanols ausgeschlossen werden.
Um bei den Probanden gleiche Voraussetzung zu schaffen, wurden die professionelle Zahnreinigung, Aufnahme der klinischen Parameter und Probenentnahmen an allen Zeitpunkten alleinig durch einen Untersucher durchgeführt. Dadurch entfielen interindividuelle Schwankungen, z.B. den Suffizienzgrad der Reinigung oder die Technik der Probenentnahme betreffend, und die aufgenommenen Daten waren im hohen Maß vergleichbar.

Die Probanden wurden instruiert 3x täglich für 3min mit der jeweiligen Lösung zu spülen. Dabei ist nicht auszuschließen, dass eine unterschiedliche Intensität und Spüldauer durch die Probanden Einfluss auf das Versuchsergebnis gehabt haben könnte. Da aber bereits eine nur 1-minütige Inkubation mit 0,1mg/ml RA zu einer maximalen Aktivitätshemmung von 80% des Arginin-Gingipains bei *P.g.* führte (Löhr 2010), sollten die individuellen Schwanken der Probanden das Spülprotokoll betreffend nur eine geringfüge Veränderung der Versuchsresultate nach sich ziehen. Den Effekt einer verkürzten Expositionsdauer zu evaluieren war jedoch nicht Bestandteil dieser Studie. Da bisher auch noch keine klinischen Erfahrungswerte bezüglich der geschmacklichen Eigenschaften und Nebenwirkungen der Testlösung bestanden, konnte kein standardisierter Fragebogen zur Lebensqualität während des Untersuchungszeitraums erstellt werden. Demnach konnten die Probanden an jedem Untersuchungstermin lediglich durch eine offene Fragestellung zu den geschmacklichen

Besonderheiten, Handling und Nebenwirkungen hin befragt und klinisch untersucht werden.

4.2.3 Erhebung klinischer Parameter

Es ist nicht auszuschließen, dass sich bei Probanden schon allein aufgrund der Tatsache, dass sie an einer Studie teilnehmen, der Mundhygienestatus verändert. Soll die Wirkung einer Mundspüllösung untersucht werden, bietet sich die Beurteilung von Zahnflächen an, die durch die Zahnbürste nur schwer erreicht werden können. Aus diesem Grund wurde der API als Plaque-Index ausgewählt, um dem Partizipationseffekt und der damit verbundenen verbesserten Reinigung der Glattflächen entgegen zu wirken. Bei der Durchführung des API wurde zusätzlich bewusst auf die Anwendung färbender Plaquerelevatoren verzichtet. Das Anfärben der Plaque während des Untersuchungszeitraumes hätte evtl. die Probanden in ihrer häuslichen Zahnputztechnik positiv beeinflusst und somit die Plaqueakkumulation verändert. Ebenfalls wurden keine Besprechung der Plaque- und Blutungswerte mit dem Probanden oder individuelle Mundhygiene-instruktionen durchgeführt, um die Wirkung der Mundspüllösung nicht durch veränderte Zahnpflegegewohnheiten zu maskieren.

Um Veränderungen im Adhäsionverhalten von *P.g.* feststellen zu können, wurde zunächst bei allen Probanden durch eine professionelle Zahnreinigung der Biofilm aufgelöst. Dieses sollte auch die Ausgangskeimzahl bei allen Probanden auf einem möglichst einheitlichen Niveau halten. Zwei Tage nach einer professionellen Zahnreinigung entspricht die Gesamtkeimzahl der supragingivalen Plaque nämlich wieder den Ausgangswerten (Uzel, Teles et al. 2011; Teles, Teles et al. 2012). Folglich bestand nun die Möglichkeit, eine eventuell generelle Plaquehemmung durch Adhäsionsverminderung von *P.g.* zu untersuchen, die sich im API widerspiegeln würde.

4.2.4 Erhebung mikrobiologische Parameter

Es existieren verschiedene Methoden, um bakterielle Proben aus der Mundhöhle zu gewinnen und somit die Wirksamkeit von Mundspüllösungen zu untersuchen.

Durch das Ausspülen der Mundhöhle mit *aqua dest.* oder der Gewinnung von Speichel und der Untersuchung dieser Flüssigkeitsprobe können Veränderungen der transienten Speichelflora bestimmt werden (Weiss, Kozlovsky et al. 2004; Nayak, Ankola et al. 2012). Da in dieser Studie jedoch das Adhäsionsverhalten

von *P.g.* im Fokus stand, dessen primäres Ziel die Anhaftung an Mukosazellen und etablierter Plaque darstellt, war die Entnahme von Abstrichen aus diesen Regionen mittels steriler Watteträger und die Plaqueentnahme durch Scaler eher geeignet und stellt eine etablierte Methode dar (Beikler, Abdeen et al. 2004; Lauten, Boyd et al. 2005; Signoretto, Burlacchini et al. 2011; Teles, Teles et al. 2012).

Die Kultivierung der oralen Bakterien galt lange Zeit als Goldstandard der mikrobiellen Diagnostik (Sanz, Lau et al. 2004). Jedoch ist die kulturelle Aufzucht von Anaerobiern äußerst fehleranfällig in Bezug auf die Probenentnahme und den Transport der Lebendkeime und arbeitsintensiv. Zur Identifizierung und Quantifizierung der zu untersuchenden Mikroorganismen aus dem gewonnenen Probenmaterial wurde in dieser Studie die qrt-PCR durchgeführt. Diese ist im Hinblick auf die Sensitivität und Spezifität der Detektionsfrequenz der bakteriellen Kultivierung überlegen (Riggio, Macfarlane et al. 1996; Sakamoto, Umeda et al. 2005; Socransky and Haffajee 2005; Suzuki, Yoshida et al. 2005). Jedoch unterscheidet diese Methode nicht zwischen lebenden und toten Bakterien, was bei der Überprüfung eines schnellen therapeutischen Effektes einer Mundspüllösung zur Reduktion lebensfähiger Pathogene von Interesse wäre. Erste Versuche zeigen einen Lösungsansatz dieser Problematik durch die Anwendung einer Genexpressionsanalyse durch Reverse-Transkriptase-qrt-PCR (Polonyi, Prenninger et al. 2013). Da RA1 nicht in einer antibakteriell wirksamen Konzentration angewendet wurde, musste keine Unterscheidung des Vitalitätszustandes von *P.g.* gemacht werden.

Die Frage besteht jedoch, wie lange *P.g.* bei einer langfristigen Anwendung von RA durch Inhibition der Adhäsion und somit dem Entzug von essentiellen Wachstumsfaktoren wie zum Beispiel Eisen allein im Speichel überlebensfähig ist.

4.3 Ergebnisse

Die eingangs formulierte 1. Hypothese, dass die intraorale Anwendung von RA1 zu einer signifikanten Reduktion von *P.g.* führt, konnte durch diese Pilotstudie nicht bestätigt werden.

Teles et al. (2012) führten Untersuchungen zur quantitativen und qualitativen Entwicklung des supragingivalen Biofilms nach professioneller Zahnreinigung durch. Für *P.g.* konnte gezeigt werden, dass sich der prozentuale Anteil an der

Gesamtplaquemenge direkt nach einer Zahnreinigung und einen Tag später nicht signifikant voneinander unterschied. Nach 2, 4 und 7 Tagen war dieser Keim hingegen auf einem signifikant reduzierten Niveau nachweisbar. Das gleiche Ergebnis zeigte sich auch in der Placebogruppe dieser Studie mit einer signifikante Reduktion von *P.g.* im Vergleich zum Ausgangsbefund V1 zu den Messzeitpunkten V3 (p= 0,009), V4 (p= 0,002) und V5 (p= 0,002). In der Verumgruppe hingegen konnte zu keinem Zeitpunkt eine signifikante Reduktion festgestellt werden. Beim Vergleich der Mittelwerte konnte sogar von V3 bis V5 eine tendenzielle Zunahme des *P.g.* Gehaltes festgestellt werden und im Boxplot-Diagramm fällt eine vermehrte Streuung der Werte 7 Tage nach der Zahnreinigung auf. Nach Absetzen der Mundspüllösung nähern sich die beiden Gruppen wieder an, indem bei der Placebogruppe der Mittelwert ansteigt und in der Verumgruppe der Wert wieder abfällt (siehe im Anhang **Tabelle 28**). Somit scheint die Wirkung von RA1 auf *P.g.* sieben Tage nach Absetzen der Lösung wieder aufgehoben zu sein. Da sich die Werte in beiden Gruppen unterschiedlich verhalten, kann also von einem Effekt von RA1 auf die intraorale Kolonisation von *P.g.* ausgegangen werden. Warum jedoch die Anzahl an *P.g.* tendenziell eher ansteigt, könnte rein spekulativ daran liegen, dass durch die Hemmung der Adhäsion *P.g.* gegenregulatorische Maßnahmen ergreift und eventuell seine Proliferationsrate verändert oder vermehrt andere, durch RA nicht beeinflusste Adhäsionsmoleküle exprimiert. Eventuell ist auch durch die Hemmung der Adhäsion die Anzahl der freien Keime erhöht, da sie nicht in das Gewebe penetrieren können. Beikler et al. (2004) zeigte bereits, dass ein supra- und subgingivales Debridement zu einer Verstreuung der Parodontalpathogenen innerhalb intra- und extraoraler Habitate führt. Die Prävalenz von *P.g.* im Speichel verdoppelte sich sogar innerhalb von 6 Monaten, was zu der Vermutung führte, dass die Bakterien durch den Wechsel in eine planktonische Form und vermehrte Proliferation im Speichel Selektionsvorteile bei der Besiedelung muköser Oberflächen haben.

Somit sind zukünftige Untersuchungen nötig, die eine Unterscheidung zwischen adhärenten und nicht-adhärenten Keimen in der Mundhöhle ermöglichen. Da bereits bekannt ist, dass sich die Genexpression von *P.g.* im Biofilm im Vergleich zur planktonischen Lebensform verändert (Lo, Seers et al. 2009), sollten weitere *in vitro* Studien den Einfluss von RA1 auf *P.g.* auf genexpressiver Ebene klären.

Für *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* zeigten sich innerhalb und zwischen den Gruppen keine signifikanten Veränderungen. Dieses entspricht auch den Ergebnissen von Teles et al. (2012) und somit übt RA1 keinen Einfluss auf *A.a.* und dessen intraorale Kolonisation aus.

Bei *Tannerella forsythia* verhält sich die Placebogruppe mit einer signifikanten Reduktion an V3 (p= 0,002) und V4 (p= 0,003), sowie einer tendenziell signifikanten Reduktion an V2 (p=0,016) und V5 (p= 0,013) ähnlich der gesunden Vergleichsgruppe bei Teles et al. (2012). In der Verumgruppe hingegen konnte keine signifikante Veränderung über die einzelnen Messzeitpunkte hinweg festgestellt werden. Es ist bekannt, dass *T.f.* unter limitierten Nährstoffbedingungen das Wachstum von *P.g.* stimuliert und dabei Gingipaine eine wichtige Rolle bei der Aufnahme dieser Wachstumsfaktoren spielen (Yoneda, Yoshikane et al. 2005). Gleichzeitig üben diese beiden Bakterien auch einen synergistischen Effekt bei der parodontalen Abszessbildung aufeinander aus, wobei auch hier die Gingipaine wieder von entscheidender Bedeutung sind (Yoneda, Hirofuji et al. 2001). Da RA1 inhibitorisch auf die Gingipainaktivität von *P.g.* wirkt (Löhr 2010), sollten weitere *in vitro* Studien den synergistischen Effekt von *P.g.* und *T.f.* bei der Biofilmbildung unter RA-Einwirkung untersuchen. Eine direkte Wirkung von RA auf *T.f.* ist dabei ebenso wenig auszuschließen, da dieser Keim ähnlich wie *P.g.* in der Lage ist, über unterschiedliche Proteinoberflächenmoleküle an Wirtszellen zu binden und in das Gewebe zu invadieren (Suzuki, Yoneda et al. 2013).

Für *Treponema denticola*, der in der supra- und subgingivalen Plaque in der Gesellschaft von *P.g.* und *T.f.* auftritt (Socransky, Haffajee et al. 1998; Haffajee, Socransky et al. 2008) und *Prevotella nigrescens* verhielten sich die Werte der Verum- und Placebogruppe mit einer Reduktion bis V4 relativ parallel. Dieses entspricht in etwa auch dem Verlauf bei Teles et al. (2012), so dass davon ausgegangen werden muss, dass RA1 keinen Einfluss auf *T.f.* und *P.n.* und deren Kolonisation intraoraler Habitate hat.

Der Werteverlauf für *Prevotella intermedia* zeigte keine signifikanten Schwankungen innerhalb und zwischen den Gruppen. Bei Teles et al. (2012) hingegen reduzierten sich die Werte signifikant nach 4 und 7 Tagen. Dieses kann eventuell darin begründet sein, dass die gesunde Vergleichsgruppe mit 38 Personen etwa doppelt so groß war wie die jeweilige Verum- oder Placebogruppe

in dieser Studie und somit Tendenzen durch eine stärkere Power der statistischen Tests dargestellt werden konnten.

Eikenella corrodens zeigte in beiden Gruppen einen signifikanten Abfall nach der Zahnreinigung mit einem folgenden stetigen Anstieg der Werte wieder auf das Ausgangsniveau zum Ende der Studie hin. Bei Teles et al. (2012) war dieser Anstieg sogar signifikant. Da in der vorliegenden Studie jedoch zum Wert V1 und nicht zu V2, wie bei Teles et al. (2012), getestet wurde, konnte eine solche Signifikanz nicht ermittelt werden.

Weder die Zahnreinigung, noch die Anwendung der beiden Mundspüllösungen für 7 Tage veränderte signifikant den intraoralen Gehalt an *Streptococcus mutans.* Dies steht auch in Korrelation zu der Vergleichsgruppe aus Teles et al. (2012), die ebenfalls keine Veränderung zeigte. Cranberry enthält ähnlich wie RA einen hohen Anteil an Proanthocyanidinen und die antiadhäsive Wirkung gegenüber bestimmten Bakterien und die Inhibition der bakteriellen Coaggregation bei der Plaquebildung konnten bereits nachgewiesen werden (Weiss, Lev-Dor et al. 1998; Weiss, Lev-Dor et al. 2002). Durch die Anwendung einer Cranberry-haltigen Mundspüllösung über 42 Tage konnte eine signifikante Reduktion von *S.mutans* in Speichelproben erreicht werden (Weiss, Kozlovsky et al. 2004). Löhr (2010) zeigte für verschiedene RA-Extrakte *in vitro* ebenfalls eine unterschiedlich starke Beeinflussung der Biofilmbildung von *S.mutans*. Somit sollte bei einer Folgestudie mit einer Anwendungsdauer von 6 Wochen der Effekt von RA auf *S.mutans* eingehender untersucht werden.

11 der 35 Probanden waren positiv auf *Candida albicans* an V1 getestet worden. Dieses entspricht einer Prävalenz von 31,4% und ist mit denen in der Literatur angegebenen Werten von 25- 50% bei gesunden Nicht-Prothesenträgern vergleichbar (Sedgley and Samaranayake 1994; Lopez-Jornet, Plana-Ramon et al. 2012). In dieser Studie hatte die Placebolösung keinen Effekt auf die *C.albicans* Prävalenz. In der Verumgruppe hingegen konnte zwar keine statistisch signifikante Reduktion von V1 bis V6 erreicht werden, jedoch fiel die Anzahl der *C.albicans* positiven Probanden von 7 auf 4 Personen. Bei *in vitro* Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Proanthocyanidine aus der Cranberryfrucht zwar nicht wachstumshemmend auf diese Hefepilzspezies wirkten, jedoch dessen Biofilmformation und die Adhärenz an oralen Epithelzellen reduzierten (Feldman, Tanabe et al. 2012). Demnach ist ein Effekt der

Proanthocyanidine aus RA auf *C.albicans* durchaus möglich und sollte über einen längeren Anwendungszeitraum untersucht werden.

Bei den Bakterien der kommensalen Mikroflora *Actinomyces viscosus*, *Veillonella parvula* und *Streptococcus sanguinis* verhielten sich die Placebo- und Verumgruppe von gleich und entsprachen den Ergebnissen von Teles et. al (2012). Somit übte keine der beiden getesteten Mundspüllösungen einen negativen Effekt auf die drei, mit einer gesunden Mundflora assoziierten Keime aus.

Für *Streptococcus* mitis ist bekannt, dass er ein dominanter Frühbesiedler dentaler Plaque ist (Li, Helmerhorst et al. 2004). Seine Prävalenz steigt bis 4 Tage nach einer Zahnreinigung signifikant an (Teles, Teles et al. 2012) und kann dadurch die Adhäsion von parodontopathogenen Keimen antagonisieren (Van Hoogmoed, Geertsema-Doornbusch et al. 2008). In der vorliegenden Studie war der Prävalenzanstieg nach 2 Tagen innerhalb der Gruppen jedoch nicht signifikant, da zum Ausgangswert V1 verglichen wurde. Gleichzeitig existierte auch kein Unterschied zwischen der Verum- und Placebogruppe, was zusätzlich gegen eine hemmende Wirkung von RA1 auf *S.mitis* spricht.

Insgesamt betrachtet führte die Anwendung der Verum- und Placebo-Lösung zu keinem signifikanten Anstieg oralpathogener Mikroorganismen und zu keiner signifikanten Reduktion kommensaler Bakterien. Somit kann ebenfalls eine bakterizide Wirkung ausgeschlossen werden, die eine mögliche Resistenzenentwicklung nach sich ziehen würde. Denn auch bei pflanzlichen Therapeutika sollte eine vorsichtige Anwendung erfolgen, da einige Komponenten, bzw. Dosierungen bakterizid, bzw. bakteriostatisch sind. Ein Selektionsdruck durch diese Mittel, ähnlich dem der Antibiotika sollte vermieden werden (Cowan 1999; Ofek, Hasty et al. 2003). Folglich hat RA1 in der 7-tägigen Anwendung keinen negativen Effekt auf die qualitative Zusammensetzung der supragingivalen Mikroflora und die zweite Arbeitshypothese konnte verifiziert werden.

Da der Geschmack und die möglichen Nebenwirkungen einer Mundspüllösung mitunter Auswirkungen auf die Compliance der Probanden und der damit verbundenen Spülintensität und Wirksamkeit haben, konnten anhand dieser Studie erste Erfahrungswerte für RA1 gesammelt werden. Bedingt durch den hohen Gerbstoffgehalt ließ sich die in der Verumgruppe signifikant häufiger auftretende bräunlicher Verfärbung der Zunge erklären, welche jedoch nach

Absetzen der Lösung komplett remittierte. Da die Hydroxylgruppen der Proanthocyanidine Quervernetzungen zwischen Proteinen bilden und somit bei Kontakt von Schleimhaut und Speichel eine zusammenhängende Membran ausbilden, ließen sich die weißlichen Flocken beim Ausspucken und der adstringierende Effekt, bzw. trockener und stumpfer Nachgeschmack erklären. Bei den Vergleichsstudien mit der klinischen Anwendung von Cranberry- und Granatapfellösungen wurden keine Angaben bezüglich möglicher aufgetretener Nebenwirkungen gemacht (Weiss, Kozlovsky et al. 2004; Bhadbhade, Acharya et al. 2011).

Mit Medianwerten von 46,00%, respektive 38,00% sprach der API für eine mäßige Mundhygiene in der Ausgangssituation der Placebo- und Verumgruppe (Lange, Plagmann et al. 1977). Beide Gruppen zeigten im Verlauf der Studie eine Verbesserung der Werte, welche zum Teil der vorausgegangenen Zahnreinigung zuzuschreiben wäre. In der Verumgruppe war diese Reduktion des API sogar statistisch signifikant an V5 und V6. Dieses spricht für einen höheren, die Plaquebildung hemmenden Effekt von RA1 im Vergleich zum Placebo, der sogar noch 7 Tage nach Absetzen des Verum anzuhalten scheint.

Versuche zu der Anwendung einer Granatapfel- und grünen Tee-haltigen Mundspüllösung über 4 Tage bei gleichzeitigem Auslassen der Mundhygiene wiesen ebenfalls eine Reduktion der Plaquebildungsrate nach (Ooshima, Minami et al. 1994; Bhadbhade, Acharya et al. 2011). In der Langzeitanwendung über 6 Wochen zusätzlich zur häuslichen Mundhygiene konnte hingegen durch eine Cranberry-Lösung keine Beeinflussung des Plaqueindex erreicht werden, jedoch war die Gesamtzahl der im Speichel befindlichen Keime im Vergleich zum Placebo signifikant reduziert (Weiss, Kozlovsky et al. 2004). Somit bleibt die Frage zu klären, wie lange der Plaque reduzierende Effekt von RA1 anhält, bzw. inwiefern die API-Werte in der Langzeitanwendung beeinflusst werden können.

Die Ausgangswerte des SBI mit 28,00% in der Placebogruppe und 22,40% in der Verumgruppe deuten auf eine mittlere Entzündungsneigung der Gingiva hin (Lange, Plagmann et al. 1977) und entsprechen den Werten des API und der Plaquemenge. Die Zahnreinigung und die Anwendung der beiden Mundspüllösungen führten zu einer signifikanten Reduktion der SBI-Werte in beiden Gruppen an V5. Dadurch, dass sogar ein tendenziell signifikanter

Unterschied zwischen den Gruppen mit p= 0,057 zu diesem Zeitpunkt bestand, scheint RA1 eine stärkere entzündungshemmende Wirkung auf die Gingiva auszuüben als das Placebo und die Zahnreinigung zusammen. Inwiefern die signifikante Reduktion des SBI an V6 in einem antiiflammatorischen Depot-Effekt von RA1 oder in dem ebenfalls an V6 signifikant reduzierten API begründet liegt, bleibt zu erruieren. Bhadbhade et al. (2011) haben leider keine Aussagen zur Entwicklung der Entzündungswerte getroffen und bei Weiss et al. (2004) zeigte wie schon beim API die 6-wöchige Anwendung von einem Cranberry-Extrakt keinen Einfluss auf den Gingiva-Index. Die Tendenz, dass RA1 in der klinischen Anwendung Plaque-hemmend und antiinflammatorisch wirkt und dem Placebo überlegen ist, ist eindeutig. Somit konnte auch die 3. Arbeitshypothese dieser Pilotstudie bestätigt werden. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen könnte eventuell durch größere Fallzahlen erreicht werden. Ebenfalls würde sich ein Versuchsmodell bei Probanden mit experimenteller Gingivitis eignen, um den Einfluss von RA1 auf proinflammatorische Cytokine zu untersuchen (Zhou, Meng et al. 2012; Matthews, Joshi et al. 2013).

Dass Mundspüllösungen mutagen und cytotoxisch wirken können, wurde bereits mittels eines Micronukleus-Test an abgeschilferten buccalen Mukosazellen nachgewiesen (Carlin, Matsumoto et al. 2012). Hierbei wurden die cytogenetischen Schäden der verschiedenen Mundspüllösungen über eine Expositionsdauer von 14 Tage evaluiert. Die Schleimhautverträglichkeit einer Testmundspüllösung wurde bei Saxer et. al. (2003) lediglich durch eine rein visuelle Inspektion der Mundhöhle untersucht. In der vorliegenden Studie konnten durch die makroskopische Betrachtung der Mundschleimhäute der Probanden keine Veränderungen während der gesamten Versuchsdauer festgestellt werden. In der Verumgruppe zeigten die cytopathologischen Untersuchungen ebenfalls keine dysplastischen Veränderungen und somit gilt RA1 als nicht cytotoxisch in der klinischen Anwendung für 7 Tage. Damit kann auch im Hinblick auf die cytologische Sicherheit die eingangs formulierte 4. Arbeitshypothese als bestätigt angesehen werden. Um RA1 jedoch auch in der Langzeitanwendung die cytologische Unbedenklichkeit aussprechen zu können, sollten weitere Untersuchungen mit einer verlängerten Expositionsdauer folgen.

5 Schlussfolgerung

Die Entwicklung antiadhäsiver Stoffe zur Unterbindung des initalen Attachments pathogener Bakterien an Zielzellen ist ein neuartiger cytoprotektiver Ansatz, um Infektionen zu einem sehr frühen Zeitpunkt zu unterbinden. Die Parodontitis ist zwar keine durch *P.g.* verursachte Monoinfektion, jedoch trägt dessen Anwesenheit zu einer Vielzahl an virulenten Attributen des supra- und subgingivalen Biofilms bei. Bei *in vitro* Versuchen zeigte der Wiesensauerampfer RA vielversprechende Ergebnisse in Bezug auf eine antiadhäsive Wirkung gegenüber *P.g.* und einen cytoprotektiven Einfluss auf humane Zellkulturen.

Die vorliegende klinische Studie zeigte, dass die getestete Mundspüllösung aus RA1 in Kombination mit einer professionellen Zahnreinigung durch signifikante Reduktion des approximalen Plaquebefalls und der Blutungsneigung der Gingiva eine potentiell plaquehemmende und antiinflammatorische Wirkung hat. Aufgrund der geringen Fallzahlen mit n= 18 für die Verumgruppe und n= 17 in der Placebogruppe konnte zwar kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen erreicht werden, jedoch ist die Tendenz der intraoralen Wirksamkeit von RA eindeutig.

Die Reduktion der Prävalenz von *P.g.* unter dem Einfluss des Verums im Gegensatz zur Placebogruppe war nicht signifikant reduziert. Durch Hemmung der Adhäsion können eventuell weniger Bakterien in das Wirtsgewebe invadieren und würden folglich in höherer Anzahl in freier Form vorliegen. Dieses könnte den Unterschied in der *P.g.* Prävalenz zwischen den beiden Versuchsgruppen erklären und könnte die eigentliche Bestätigung der antiadhäsiven Wirkung dieses Pflanzenextraktes sein. Inwiefern diese adhäsions-inhibierten, planktonischen Bakterien noch einen proinflammatorischen und virulenten Effekt auf das intraorale Mikrobiom und den Wirt ausüben, bedarf weiterer *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen.

Im Hinblick auf die weiteren mikrobiologischen Ergebnisse führte die 7-tägige Anwendung beider Mundspüllösungen weder zu einem signifikanten Prävalenzanstieg oralpathogenener Mikroorganismen, noch zu einer signifikanten Reduktion kommesaler Bakterien. Ebenfalls konnten in der klinischen Inspektion und cytologischen Untersuchung keine nachteiligen Effekte der Testmundspüllösung gesehen werden. Demzufolge kann für RA1 in der Darreichungsform als Mundspüllösung bei einer Anwendungsdauer von 7 Tagen

die mikrobiologische und cytopatholgische Unbedenklichkeit ausgesprochen werde.

Um RA jedoch als pflanzliches Additivum bei der oralen Prophylaxe oder täglichen Mundhygiene in Erwägung zu ziehen, bedarf es weiterer Langzeituntersuchungen. Von großem Interesse wäre ebenfalls eine Interventionsstudie mit Gingivitispatienten oder *P.g.* positiven, parodontal Erkrankten, um die cytoprotektive Wirksamkeit zu eruieren.

6 Literaturverzeichnis

Anke, J., F. Petereit, et al. (**2008**). "Procyanidins from Myrothamnus flabellifolia." Nat Prod Res 22(14): 1237-1248.

Ardila, C. M., M. I. Granada, et al. (**2010**). "Antibiotic resistance of subgingival species in chronic periodontitis patients." J Periodontal Res 45(4): 557-563.

Ashimoto, A., C. Chen, et al. (**1996**). "Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions." Oral Microbiol Immunol 11(4): 266-273.

Axelsson, P. and J. Lindhe (**1981**). "The significance of maintenance care in the treatment of periodontal disease." J Clin Periodontol 8(4): 281-294.

Ayyad, S. B., E. Israel, et al. (**2006**). "Evaluation of Papanicolaou stain for studying micronuclei in buccal cells under field conditions." Acta Cytol 50(4): 398-402.

Bavington, C. and C. Page (**2005**). "Stopping bacterial adhesion: a novel approach to treating infections." Respiration 72(4): 335-344.

Beikler, T., G. Abdeen, et al. (**2004**). "Microbiological shifts in intra- and extraoral habitats following mechanical periodontal therapy." J Clin Periodontol 31(9): 777-783.

Beikler, T., N. Karch, et al. (**2003**). "Adjuvante Antibiotika in der Parodontitistherapie- Wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK." DZZ.

Bhadbhade, S. J., A. B. Acharya, et al. (**2011**). "The antiplaque efficacy of pomegranate mouthrinse." Quintessence Int 42(1): 29-36.

Bicker, J., F. Petereit, et al. (**2009**). "Proanthocyanidins and a phloroglucinol derivative from Rumex acetosa L." Fitoterapia 80(8): 483-495.

Bionorica (2010). "Sinupret- Gebrauchsinformation."

Bocking, A. (**1998**). "[Standardization of cytopathologic diagnosis]." Pathologe 19(3): 236-241.

Bodet, C., F. Chandad, et al. (**2007**). "Cranberry components inhibit interleukin-6, interleukin-8, and prostaglandin E production by lipopolysaccharide-activated gingival fibroblasts." Eur J Oral Sci 115(1): 64-70.

Bollen, C. M. and M. Quirynen (**1996**). "Microbiological response to mechanical treatment in combination with adjunctive therapy. A review of the literature." J Periodontol 67(11): 1143-1158.

Booth, V., F. P. Ashley, et al. (**1996**). "Passive immunization with monoclonal antibodies against Porphyromonas gingivalis in patients with periodontitis." Infect Immun 64(2): 422-427.

Brunner, J., F. R. Wittink, et al. (**2010**). "The core genome of the anaerobic oral pathogenic bacterium Porphyromonas gingivalis." BMC Microbiol 10: 252.

Busscher, H. J., M. Rinastiti, et al. (**2010**). "Biofilm formation on dental restorative and implant materials." J Dent Res 89(7): 657-665.

Carlin, V., M. A. Matsumoto, et al. (**2012**). "Cytogenetic damage induced by mouthrinses formulations in vivo and in vitro." Clin Oral Investig 16(3): 813-820.

Chen, P. B., M. E. Neiders, et al. (**1987**). "Effect of immunization on experimental Bacteroides gingivalis infection in a murine model." Infect Immun 55(10): 2534-2537.

Chen, T., K. Nakayama, et al. (**2001**). "Porphyromonas gingivalis gingipains and adhesion to epithelial cells." Infect Immun 69(5): 3048-3056.

Clark, W. B. and H. Loe (**1993**). "Mechanisms of initiation and progression of periodontal disease." Periodontol 2000 2: 72-82.

Colombo, A. V., C. M. da Silva, et al. (**2007**). "Identification of intracellular oral species within human crevicular epithelial cells from subjects with chronic periodontitis by fluorescence in situ hybridization." J Periodontal Res 42(3): 236-243.

Cowan, M. M. (**1999**). "Plant products as antimicrobial agents." Clin Microbiol Rev 12(4): 564-582.

Darby, I. (**2009**). "Non-surgical management of periodontal disease." Aust Dent J 54 Suppl 1: S86-95.

Darveau, R. P., C. M. Belton, et al. (**1998**). "Local chemokine paralysis, a novel pathogenic mechanism for Porphyromonas gingivalis." Infect Immun 66(4): 1660-1665.

Darveau, R. P., M. D. Cunningham, et al. (**1995**). "The ability of bacteria associated with chronic inflammatory disease to stimulate E-selectin expression and neutrophil adhesion." Prog Clin Biol Res 392: 69-78.

Darveau, R. P., G. Hajishengallis, et al. (**2012**). "Porphyromonas gingivalis as a potential community activist for disease." J Dent Res 91(9): 816-820.

Darveau, R. P., A. Tanner, et al. (**1997**). "The microbial challenge in periodontitis." Periodontol 2000 14: 12-32.

de la Iglesia, R., F. I. Milagro, et al. (**2010**). "Healthy properties of proanthocyanidins." Biofactors 36(3): 159-168.

de Vrese, M. and J. Schrezenmeir (**2008**). "Probiotics, prebiotics, and synbiotics." Adv Biochem Eng Biotechnol 111: 1-66.

Dhingra, K. and K. L. Vandana (**2010**). "Prophylactic vaccination against periodontal disease: a systematic review of preclinical studies." J Periodontol 81(11): 1529-1546.

Ellerbrock, B. (**2010**). "Untersuchung kariogener Mikroorganismen auf den freiliegenden Wurzeloberflächen bei Patienten mit chronischer Parodontitis." Dissertation Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

Estrada-Barraza, D., A. Davalos Martinez, et al. (**2011**). "[Comparison between conventional methods, ChromAgar Candida(R) and PCR method for the identification of Candida species in clinical isolates]." Rev Iberoam Micol 28(1): 36-42.

Evans, R. T., B. Klausen, et al. (**1992**). "Immunization with fimbrial protein and peptide protects against Porphyromonas gingivalis-induced periodontal tissue destruction." Adv Exp Med Biol 327: 255-262.

Evans, R. T., B. Klausen, et al. (**1992**). "Immunization with Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis fimbriae protects against periodontal destruction." Infect Immun 60(7): 2926-2935.

Fabrizi, S., R. Leon, et al. (**2013**). "Variability of the fimA gene in Porphyromonas gingivalis isolated from periodontitis and non-periodontitis patients." Med Oral Patol Oral Cir Bucal 18(1): e100-105.

Fan, X., Z. Wang, et al. (**2012**). "RgpA DNA Vaccine Induces Antibody Response and Prevents Alveolar Bone Loss in Experimental Peri-implantitis." J Periodontol.

FAO/WHO-Working-Group (**2002**). "Guidelines for the evaluation of probiotics in food." Meeting London, Ontario, Canada.

Feldman, M. and D. Grenier (**2012**). "Cranberry proanthocyanidins act in synergy with licochalcone A to reduce Porphyromonas gingivalis growth and virulence properties, and to suppress cytokine secretion by macrophages." J Appl Microbiol 113(2): 438-447.

Feldman, M., S. Tanabe, et al. (**2012**). "Cranberry proanthocyanidins inhibit the adherence properties of Candida albicans and cytokine secretion by oral epithelial cells." BMC Complement Altern Med 12: 6.

Feng, Z. and A. Weinberg (**2006**). "Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues." Periodontol 2000 40: 50-76.

Gemmell, E., R. I. Marshall, et al. (**1997**). "Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease." Periodontol 2000 14: 112-143.

Genco, C. A., D. R. Kapczynski, et al. (**1992**). "Influence of immunization on Porphyromonas gingivalis colonization and invasion in the mouse chamber model." Infect Immun 60(4): 1447-1454.

Geßner, O. (**1953**). "Organische Säuren als Hauptwirkstoffe enthaltene Pflanzen." Die Gerbstoffe & Gerbmittel, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft M.B.H., Stuttgart: 262- 392.

Giannino, M. L., M. Aliprandi, et al. (**2009**). "A DNA array based assay for the characterization of microbial community in raw milk." J Microbiol Methods 78(2): 181-188.

Gibbons, R. J. (**1989**). "Bacterial adhesion to oral tissues: a model for infectious diseases." J Dent Res 68(5): 750-760.

Gibson, F. C. and C. A. Genco (**2001**). "Prevention of Porphyromonas gingivalis-induced oral bone loss following immunization with gingipain R1." Infect Immun 69(12): 7959-7963.

Gjermo, P., K. L. Baastad, et al. (**1970**). "The plaque=inhibiting capacity of 11 antibacterial compounds." J Periodontal Res 5(2): 102-109.

Glockmann, E., K.-D. Panzer, et al. (**2011**). "Ursachen des Zahnverlustes in Deutschland- Dokumentation einer bundesweiten Erhebung (2007)." IDZ-Information No 2/ 2011.

Govindaraj, J., P. Emmadi, et al. (**2011**). "Therapeutic effects of proanthocyanidins on the pathogenesis of periodontitis--an overview." Indian J Exp Biol 49(2): 83-93.

Greenstein, G. and I. Lamster (**1997**). "Bacterial transmission in periodontal diseases: a critical review." J Periodontol 68(5): 421-431.

Griffen, A. L., M. R. Becker, et al. (**1998**). "Prevalence of Porphyromonas gingivalis and periodontal health status." J Clin Microbiol 36(11): 3239-3242.

Griffen, A. L., S. R. Lyons, et al. (**1999**). "Porphyromonas gingivalis strain variability and periodontitis." J Clin Microbiol 37(12): 4028-4033.

Groppo, F. C., C. Bergamaschi Cde, et al. (**2008**). "Use of phytotherapy in dentistry." Phytother Res 22(8): 993-998.

Guo, R., P. H. Canter, et al. (**2006**). "Herbal medicines for the treatment of rhinosinusitis: a systematic review." Otolaryngol Head Neck Surg 135(4): 496-506.

Guo, Y., K. A. Nguyen, et al. (**2010**). "Dichotomy of gingipains action as virulence factors: from cleaving substrates with the precision of a surgeon's knife to a meat chopper-like brutal degradation of proteins." Periodontol 2000 54(1): 15-44.

Gupta, G. (**2011**). "Probiotics and periodontal health." J Med Life 4(4): 387-394.

Haffajee, A. D., M. A. Cugini, et al. (**1997**). "Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planing." J Clin Periodontol 24(10): 767-776.

Haffajee, A. D. and S. S. Socransky (**1994**). "Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases." Periodontol 2000 5: 78-111.

Haffajee, A. D., S. S. Socransky, et al. (**2008**). "Microbial complexes in supragingival plaque." Oral Microbiol Immunol 23(3): 196-205.

Hajishengallis, G. (**2009**). "Porphyromonas gingivalis-host interactions: open war or intelligent guerilla tactics?" Microbes Infect 11(6-7): 637-645.

Hajishengallis, G., R. P. Darveau, et al. (**2012**). "The keystone-pathogen hypothesis." Nat Rev Microbiol 10(10): 717-725.

Hajishengallis, G. and R. J. Lamont (**2012**). "Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology." Mol Oral Microbiol 27(6): 409-419.

Hajishengallis, G., M. A. Shakhatreh, et al. (**2007**). "Complement receptor 3 blockade promotes IL-12-mediated clearance of Porphyromonas gingivalis and negates its virulence in vivo." J Immunol 179(4): 2359-2367.

Hannig, M. and C. Hannig (**2012**). "Nanotechnology and its role in caries therapy." Adv Dent Res 24(2): 53-57.

Hänsel, R. and L. Hölzl (**1996**). "Lehrbuch der pharmazeutischen Biologie, Springer Verlag." 219.

Harper-Owen, R., D. Dymock, et al. (**1999**). "Detection of unculturable bacteria in periodontal health and disease by PCR." J Clin Microbiol 37(5): 1469-1473.

Hawkey, P. M. (**1998**). "Action against antibiotic resistance: no time to lose." Lancet 351(9112): 1298-1299.

Hegnauer, R. (**1962- 2001**). "Chemotaxonomie der Pflanzen " Birkenhäuser Verlag, Basel, Bosten, München I - X.

Hill, J. E., W. M. Fernando, et al. (**2010**). "Improvement of the representation of bifidobacteria in fecal microbiota metagenomic libraries by application of the cpn60 universal primer cocktail." Appl Environ Microbiol 76(13): 4550-4552.

Hillman, J. D. and S. S. Socransky (**1987**). "Replacement therapy of the prevention of dental disease." Adv Dent Res 1(1): 119-125.

Hoshino, T., M. Kawaguchi, et al. (**2004**). "PCR detection and identification of oral streptococci in saliva samples using gtf genes." Diagn Microbiol Infect Dis 48(3): 195-199.

Imamura, T. (**2003**). "The role of gingipains in the pathogenesis of periodontal disease." J Periodontol 74(1): 111-118.

Iniesta, M., D. Herrera, et al. (**2012**). "Probiotic effects of orally administered Lactobacillus reuteri-containing tablets on the subgingival and salivary microbiota in patients with gingivitis. A randomized clinical trial." J Clin Periodontol 39(8): 736-744.

Ito, A., M. Hayashi, et al. (**2012**). "How regular visits and preventive programs affect onset of adult caries." J Dent Res 91(7 Suppl): 52S-58S.

Jepsen, S., M. Kebschull, et al. (**2011**). "[Relationship between periodontitis and systemic diseases]." Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 54(9): 1089-1096.

Jepsen, S. and J. Meyle (**2000**). "Der parodontale Screening- Index (PSI)." Parodontologie 11: 17-21.

Jong, R. A. and W. A. van der Reijden (**2010**). "Feasibility and therapeutic strategies of vaccines against Porphyromonas gingivalis." Expert Rev Vaccines 9(2): 193-208.

Katz, J., K. P. Black, et al. (**1999**). "Host responses to recombinant hemagglutinin B of Porphyromonas gingivalis in an experimental rat model." Infect Immun 67(9): 4352-4359.

Keijser, B. J., E. Zaura, et al. (**2008**). "Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults." J Dent Res 87(11): 1016-1020.

Kelly, C. G. and J. S. Younson (**2000**). "Anti-adhesive strategies in the prevention of infectious disease at mucosal surfaces." Expert Opin Investig Drugs 9(8): 1711-1721.

Kononen, E., S. Paju, et al. (**2007**). "Population-based study of salivary carriage of periodontal pathogens in adults." J Clin Microbiol 45(8): 2446-2451.

Kornman, K. S., R. C. Page, et al. (**1997**). "The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players." Periodontol 2000 14: 33-53.

Krasse, P., B. Carlsson, et al. (**2006**). "Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic Lactobacillus reuteri." Swed Dent J 30(2): 55-60.

Kushiyama, M., Y. Shimazaki, et al. (**2009**). "Relationship between intake of green tea and periodontal disease." J Periodontol 80(3): 372-377.

La, V. D., A. B. Howell, et al. (**2010**). "Anti-Porphyromonas gingivalis and anti-inflammatory activities of A-type cranberry proanthocyanidins." Antimicrob Agents Chemother 54(5): 1778-1784.

Labrecque, J., C. Bodet, et al. (**2006**). "Effects of a high-molecular-weight cranberry fraction on growth, biofilm formation and adherence of Porphyromonas gingivalis." J Antimicrob Chemother 58(2): 439-443.

Lamont, R. J. and H. F. Jenkinson (**1998**). "Life below the gum line: pathogenic mechanisms of Porphyromonas gingivalis." Microbiol Mol Biol Rev 62(4): 1244-1263.

Lamont, R. J., D. Oda, et al. (**1992**). "Interaction of Porphyromonas gingivalis with gingival epithelial cells maintained in culture." Oral Microbiol Immunol 7(6): 364-367.

Lamont, T. (**2012**). "No differences in gingival health associated outcomes following single-visit scale and polish." Evid Based Dent 13(4): 114.

Lange, D. E. (**1978**). "[The use of indices in the diagnosis of periodontal diseases]." Dtsch Zahnarztl Z 33(1): 8-11.

Lange, D. E., H. C. Plagmann, et al. (**1977**). "[Clinical methods for the objective evaluation of oral hygiene]." Dtsch Zahnarztl Z 32(1): 44-47.

Lauten, J. D., L. Boyd, et al. (**2005**). "A clinical study: Melaleuca, Manuka, Calendula and green tea mouth rinse." Phytother Res 19(11): 951-957.

Levin, B. R. and D. E. Rozen (**2006**). "Non-inherited antibiotic resistance." Nat Rev Microbiol 4(7): 556-562.

Lewis, J. P. (**2010**). "Metal uptake in host-pathogen interactions: role of iron in Porphyromonas gingivalis interactions with host organisms." Periodontol 2000 52(1): 94-116.

Li, J., E. J. Helmerhorst, et al. (**2004**). "Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm." J Appl Microbiol 97(6): 1311-1318.

Lo, A. W., C. A. Seers, et al. (**2009**). "Comparative transcriptomic analysis of Porphyromonas gingivalis biofilm and planktonic cells." BMC Microbiol 9: 18.

Löhr, G. (**2010**). "Adhäsion von Porphyromonas gingivalis: Antiadhäsive und zytoprotektive Wirkungen proanthocyanidinhaltiger Pflanzenextrakte." Dissertation Westfälische Wilhelms- Universität

Lohr, G., T. Beikler, et al. (**2011**). "Polyphenols from Myrothamnus flabellifolia Welw. inhibit in vitro adhesion of Porphyromonas gingivalis and exert anti-inflammatory cytoprotective effects in KB cells." J Clin Periodontol 38(5): 457-469.

Lopez-Jornet, P., E. Plana-Ramon, et al. (**2012**). "Short-term side effects of 0.2% alcohol-free chlorhexidine mouthrinse in geriatric patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled study." Gerodontology 29(4): 292-298.

Madaus, G. (***1938***). "*Rumex acetosa* und *Rumex crispus*." Lehrbuch der biologischen Heilmittel, Georg Thieme Verlag, Leipzig: 2365- 2371.

Maruyama, T., T. Tomofuji, et al. (**2011**). "Supplementation of green tea catechins in dentifrices suppresses gingival oxidative stress and periodontal inflammation." Arch Oral Biol 56(1): 48-53.

Matthews, C. R., V. Joshi, et al. (**2013**). "Host-bacterial interactions during induction and resolution of experimental gingivitis in current smokers." J Periodontol 84(1): 32-40.

Mayanagi, G., M. Kimura, et al. (**2009**). "Probiotic effects of orally administered Lactobacillus salivarius WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: a double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial." J Clin Periodontol 36(6): 506-513.

Michalowicz, B. S., S. R. Diehl, et al. (**2000**). "Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis." J Periodontol 71(11): 1699-1707.

Micheelis, W. and U. Schiffner (**2006**). "Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV)." IDZ- Materialienreihe, Deutscher Zahnärzte Verlag Köln Band 31.

Miyauchi, S., T. Maekawa, et al. (**2012**). "Oral infection with Porphyromonas gingivalis and systemic cytokine profile in C57BL/6.KOR-ApoE shl mice." J Periodontal Res 47(3): 402-408.

Nackaerts, O., R. Jacobs, et al. (**2008**). "- Replacement therapy for periodontitis: pilot radiographic evaluation in a dog." J Clin Periodontol 35(12): 1048-1052.

Nakhjiri, S. F., Y. Park, et al. (**2001**). "Inhibition of epithelial cell apoptosis by Porphyromonas gingivalis." FEMS Microbiol Lett 200(2): 145-149.

Nayak, S. S., A. V. Ankola, et al. (**2012**). "Effectiveness of mouthrinse formulated from ethanol extract of Terminalia chebula fruit on salivary Streptococcus mutans among 12 to 15 year old school children of Belgaum city: a randomized field trial." J Indian Soc Pedod Prev Dent 30(3): 231-236.

Netuschil, L., T. Hoffmann, et al. (**2003**). "How to select the right mouthrinses in periodontal prevention and therapy. Part I. Test systems and clinical investigations." Int J Dent Hyg 1(3): 143-150.

O'Brien-Simpson, N. M., R. A. Paolini, et al. (**2000**). "RgpA-Kgp peptide-based immunogens provide protection against Porphyromonas gingivalis challenge in a murine lesion model." Infect Immun 68(7): 4055-4063.

Ofek, I., D. L. Hasty, et al. (**2003**). "Anti-adhesion therapy of bacterial diseases: prospects and problems." FEMS Immunol Med Microbiol 38(3): 181-191.

Ogawa, T., Y. Kusumoto, et al. (**1991**). "Immunobiological activities of synthetic peptide segments of fimbrial protein from Porphyromonas gingivalis." Biochem Biophys Res Commun 180(3): 1335-1341.

Okamoto, M., A. Sugimoto, et al. (**2004**). "Inhibitory effect of green tea catechins on cysteine proteinases in Porphyromonas gingivalis." Oral Microbiol Immunol 19(2): 118-120.

Okuda, K., T. Kato, et al. (**1988**). "Protective efficacy of active and passive immunizations against experimental infection with Bacteroides gingivalis in ligated hamsters." J Dent Res 67(5): 807-811.

Okuda, K., A. Yamamoto, et al. (**1986**). "Purification and properties of hemagglutinin from culture supernatant of Bacteroides gingivalis." Infect Immun 54(3): 659-665.

Ooshima, T., T. Minami, et al. (**1994**). "Reduction of dental plaque deposition in humans by oolong tea extract." Caries Res 28(3): 146-149.

Page, R. C. (**2004**). "The microbiological case for adjunctive therapy for periodontitis." J Int Acad Periodontol 6(4 Suppl): 143-149.

Paster, B. J., I. Olsen, et al. (**2006**). "The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites." Periodontol 2000 42: 80-87.

Petersilka, G. J., B. Ehmke, et al. (**2002**). "Antimicrobial effects of mechanical debridement." Periodontol 2000 28: 56-71.

Polak, D., R. Nadaf, et al. (**2012**). "The Protective Potential of Non-Dialysable Material Fraction of Cranberry Juice on the Virulence of P. Gingivalis and F. Nucleatum Mixed Infection." J Periodontol.

Polonyi, M., N. Prenninger, et al. (**2013**). "Assessment of viable periodontal pathogens by reverse transcription quantitative polymerase chain reaction." J Periodontal Res.

Potempa, J., A. Banbula, et al. (**2000**). "Role of bacterial proteinases in matrix destruction and modulation of host responses." Periodontol 2000 24: 153-192.

Potempa, J., R. Pike, et al. (**1997**). "Titration and mapping of the active site of cysteine proteinases from Porphyromonas gingivalis (gingipains) using peptidyl chloromethanes." Biol Chem 378(3-4): 223-230.

Puig-Silla, M., F. Dasi-Fernandez, et al. (**2012**). "Prevalence of fimA genotypes of Porphyromonas gingivalis and other periodontal bacteria in a Spanish population with chronic periodontitis." Med Oral Patol Oral Cir Bucal 17(6): e1047-1053.

Quirynen, M., R. Vogels, et al. (**2005**). "Initial subgingival colonization of 'pristine' pockets." J Dent Res 84(4): 340-344.

Remmerbach, T. W., S. N. Mathes, et al. (**2004**). "[Noninvasive brush biopsy as an innovative tool for early detection of oral carcinomas]." Mund Kiefer Gesichtschir 8(4): 229-236.

Reynolds, J. J. and M. C. Meikle (**1997**). "Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis." Periodontol 2000 14: 144-157.

Riggio, M. P., T. W. Macfarlane, et al. (**1996**). "Comparison of polymerase chain reaction and culture methods for detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in subgingival plaque samples." J Periodontal Res 31(7): 496-501.

Roberts, F. A. and R. P. Darveau (**2002**). "Beneficial bacteria of the periodontium." Periodontol 2000 30: 40-50.

Saha, S., C. Tomaro-Duchesneau, et al. (**2012**). "Probiotics as oral health biotherapeutics." Expert Opin Biol Ther 12(9): 1207-1220.

Sakamoto, M., M. Umeda, et al. (**2005**). "Molecular analysis of human oral microbiota." J Periodontal Res 40(3): 277-285.

Sakanaka, S., M. Aizawa, et al. (**1996**). "Inhibitory effects of green tea polyphenols on growth and cellular adherence of an oral bacterium, Porphyromonas gingivalis." Biosci Biotechnol Biochem 60(5): 745-749.

Sakanaka, S. and Y. Okada (**2004**). "Inhibitory effects of green tea polyphenols on the production of a virulence factor of the periodontal-disease-causing anaerobic bacterium Porphyromonas gingivalis." J Agric Food Chem 52(6): 1688-1692.

Samot, J. and C. Badet (**2013**). "Antibacterial activity of probiotic candidates for oral health." Anaerobe 19: 34-38.

Sampson, C. (**2010**). "Is routine dental prophylaxis effective?" Evid Based Dent 11(1): 16-17.

Sanz, M., L. Lau, et al. (**2004**). "Methods of detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis and Tannerella forsythensis in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review." J Clin Periodontol 31(12): 1034-1047.

Saxer, U. P., A. Stauble, et al. (**2003**). "[Effect of mouthwashing with tea tree oil on plaque and inflammation]." Schweiz Monatsschr Zahnmed 113(9): 985-996.

Sedgley, C. M. and L. P. Samaranayake (**1994**). "The oral prevalence of aerobic and facultatively anaerobic gram-negative rods and yeasts in Hong Kong Chinese." Arch Oral Biol 39(6): 459-466.

Shibata, Y., Y. Hosogi, et al. (**2005**). "Construction of novel human monoclonal antibodies neutralizing Porphyromonas gingivalis hemagglutination activity using transgenic mice expressing human Ig loci." Vaccine 23(29): 3850-3856.

Signoretto, C., G. Burlacchini, et al. (**2011**). "Testing a low molecular mass fraction of a mushroom (Lentinus edodes) extract formulated as an oral rinse in a cohort of volunteers." J Biomed Biotechnol 2011: 857987.

Signoretto, C., P. Canepari, et al. (**2012**). "Functional foods and strategies contrasting bacterial adhesion." Curr Opin Biotechnol 23(2): 160-167.

Sissons, C. H., L. Wong, et al. (**1996**). "Inhibition by ethanol of the growth of biofilm and dispersed microcosm dental plaques." Arch Oral Biol 41(1): 27-34.

Socransky, S. S. and A. D. Haffajee (**2005**). "Periodontal microbial ecology." Periodontol 2000 38: 135-187.

Socransky, S. S., A. D. Haffajee, et al. (**1998**). "Microbial complexes in subgingival plaque." J Clin Periodontol 25(2): 134-144.

Stubbs, S., S. F. Park, et al. (**1999**). "Direct detection of Prevotella intermedia and P. nigrescens in suppurative oral infection by amplification of 16S rRNA gene." J Med Microbiol 48(11): 1017-1022.

Sugano, N. (**2012**). "Biological plaque control: novel therapeutic approach to periodontal disease." J Oral Sci 54(1): 1-5.

Suzuki, N., M. Yoneda, et al. (**2013**). "Mixed red-complex bacterial infection in periodontitis." Int J Dent 2013: 587279.

Suzuki, N., A. Yoshida, et al. (**2005**). "Quantitative analysis of multi-species oral biofilms by TaqMan Real-Time PCR." Clin Med Res 3(3): 176-185.

Takahashi, Y., H. Kumada, et al. (**2007**). "Induction of immune responses and prevention of alveolar bone loss by intranasal administration of mice with Porphyromonas gingivalis fimbriae and recombinant cholera toxin B subunit." Oral Microbiol Immunol 22(6): 374-380.

Teles, F. R., R. P. Teles, et al. (**2012**). "Early microbial succession in redeveloping dental biofilms in periodontal health and disease." J Periodontal Res 47(1): 95-104.

Teles, R. P., A. D. Haffajee, et al. (**2006**). "Microbiological goals of periodontal therapy." Periodontol 2000 42: 180-218.

Teughels, W., S. Kinder Haake, et al. (**2007**). "Bacteria interfere with A. actinomycetemcomitans colonization." J Dent Res 86(7): 611-617.

Teughels, W., G. Loozen, et al. (**2011**). "Do probiotics offer opportunities to manipulate the periodontal oral microbiota?" J Clin Periodontol 38 Suppl 11: 159-177.

Teughels, W., M. Newman, et al. (**2007**). "- Guiding periodontal pocket recolonization: a proof of concept." J Dent Res 86(11): 1078-1082.

Tipton, D. A., J. P. Babu, et al. (**2012**). "Effects of cranberry components on human aggressive periodontitis gingival fibroblasts." J Periodontal Res.

Tipton, D. A., S. Cho, et al. (**2013**). "Inhibition of interleukin-17-stimulated interleukin-6 and -8 production by cranberry components in human gingival fibroblasts and epithelial cells." J Periodontal Res.

Uzel, N. G., F. R. Teles, et al. (**2011**). "Microbial shifts during dental biofilm re-development in the absence of oral hygiene in periodontal health and disease." J Clin Periodontol 38(7): 612-620.

Van Dyke, T. E. and D. Sheilesh (**2005**). "Risk factors for periodontitis." J Int Acad Periodontol 7(1): 3-7.

van Essche, M., G. Loozen, et al. (**2012**). "Bacterial Antagonism Against Periodontopathogens." J Periodontol.

Van Hoogmoed, C. G., G. I. Geertsema-Doornbusch, et al. (**2008**). "Reduction of periodontal pathogens adhesion by antagonistic strains." Oral Microbiol Immunol 23(1): 43-48.

Van Winkelhoff, A. J. and K. Boutaga (**2005**). "Transmission of periodontal bacteria and models of infection." J Clin Periodontol 32 Suppl 6: 16-27.

van Winkelhoff, A. J., B. G. Loos, et al. (**2002**). "Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction." J Clin Periodontol 29(11): 1023-1028.

Varoni, E., M. Tarce, et al. (**2012**). "Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art." Minerva Stomatol 61(9): 399-419.

Varoni, E. M., G. Lodi, et al. (**2012**). "Plant polyphenols and oral health: old phytochemicals for new fields." Curr Med Chem 19(11): 1706-1720.

Vasconcelos, L. C., F. C. Sampaio, et al. (**2006**). "Minimum inhibitory concentration of adherence of Punica granatum Linn (pomegranate) gel against S. mutans, S. mitis and C. albicans." Braz Dent J 17(3): 223-227.

Vivekananda, M. R., K. L. Vandana, et al. (**2010**). "Effect of the probiotic Lactobacilli reuteri (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial." J Oral Microbiol 2.

Walker, C. B. (**1996**). "The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora." Periodontol 2000 10: 79-88.

Weiger, R., L. Netuschil, et al. (**1998**). "An approach to differentiate between antibacterial and antiadhesive effects of mouthrinses in vivo." Arch Oral Biol 43(7): 559-565.

Weiss, E. I., A. Kozlovsky, et al. (**2004**). "A high molecular mass cranberry constituent reduces mutans streptococci level in saliva and inhibits in vitro adhesion to hydroxyapatite." FEMS Microbiol Lett 232(1): 89-92.

Weiss, E. I., R. Lev-Dor, et al. (**1998**). "Inhibiting interspecies coaggregation of plaque bacteria with a cranberry juice constituent [published erratam appear in J Am Dent Assoc 1999 Jan;130(1):36 and 1999 Mar;130(3):332]." J Am Dent Assoc 129(12): 1719-1723.

Weiss, E. L., R. Lev-Dor, et al. (**2002**). "Inhibitory effect of a high-molecular-weight constituent of cranberry on adhesion of oral bacteria." Crit Rev Food Sci Nutr 42(3 Suppl): 285-292.

Wellek, S. and M. Blettner (**2012**). "On the proper use of the crossover design in clinical trials: part 18 of a series on evaluation of scientific publications." Dtsch Arztebl Int 109(15): 276-281.

WHO (**2002**). "Global Oral Health Data Bank. Geneva: World Health Organisation."

Ximenez-Fyvie, L. A., A. D. Haffajee, et al. (**2000**). "Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis." J Clin Periodontol 27(9): 648-657.

Yamanaka, A., T. Kouchi, et al. (**2007**). "Inhibitory effect of cranberry polyphenol on biofilm formation and cysteine proteases of Porphyromonas gingivalis." J Periodontal Res 42(6): 589-592.

Yang, H. W., Y. F. Huang, et al. (**2004**). "Occurrence of Porphyromonas gingivalis and Tannerella forsythensis in periodontally diseased and healthy subjects." J Periodontol 75(8): 1077-1083.

Yang, Q. B., M. Martin, et al. (**2002**). "Mechanisms of monophosphoryl lipid A augmentation of host responses to recombinant HagB from Porphyromonas gingivalis." Infect Immun 70(7): 3557-3565.

Yilmaz, O., P. A. Young, et al. (**2003**). "Gingival epithelial cell signalling and cytoskeletal responses to Porphyromonas gingivalis invasion." Microbiology 149(Pt 9): 2417-2426.

Yoneda, M., T. Hirofuji, et al. (**2001**). "Mixed infection of Porphyromonas gingivalis and Bacteroides forsythus in a murine abscess model: involvement of gingipains in a synergistic effect." J Periodontal Res 36(4): 237-243.

Yoneda, M., T. Yoshikane, et al. (**2005**). "Stimulation of growth of Porphyromonas gingivalis by cell extracts from Tannerella forsythia." J Periodontal Res 40(2): 105-109.

Yu, F., Q. A. Xu, et al. (**2011**). "A targeted fimA DNA vaccine prevents alveolar bone loss in mice after intra-nasal administration." J Clin Periodontol 38(4): 334-340.

Zhang, W., J. Ju, et al. (**2013**). "Integrin alpha5beta1-fimbriae binding and actin rearrangement are essential for Porphyromonas gingivalis invasion of osteoblasts and subsequent activation of the JNK pathway." BMC Microbiol 13: 5.

Zhao, L., Y. F. Wu, et al. (**2007**). "Prevalence of fimA genotypes of Porphyromonas gingivalis and periodontal health status in Chinese adults." J Periodontal Res 42(6): 511-517.

Zhou, M., H. X. Meng, et al. (**2012**). "Changes of four proinflammatory proteins in whole saliva during experimental gingivitis." Chin J Dent Res 15(2): 121-127.

7 Anhang

Datentabellen der Studienauswertung

Tabelle 26: Ausgewählte Primer für die konventionelle und qrt-PCR

Tabelle 27: Klinische Daten

Tabelle 28-40: Mikrobiologische Daten

Tabelle 41: Cytopathologische Befunde

Danksagung

Eidesstattliche Versicherung

Tabelle 26: ausgewählte Forward- und Reverse-Primer für die konventionelle und qrt-PCR

Bakterium	Primer	Sequenz 5´-3´	Art	Quelle	PCR-Bedingung	Melt-Point
Poly	HDA1	GACTCCTACGGGAGGCAGCAGT	Eubacterien	(Giannino, Aliprandi et al. 2009)	Standard 60°C	82,50°C
	Universal R2	GWATTACCGCGGCKGCTG	Eubacterien	(Hill, Fernando et al. 2010)	Standard 63°C	
T.d.	TD 16S F	TAATACCGAATGTGCTCATTTACAT	*Treponema denticola*	(Ashimoto, Chen et al. 1996)	Standard 60°C	84,50°C
	TD 16S R	TCAAAGAAGCATTCCCTCTCTTCTTA	*Treponema denticola*	(Ashimoto, Chen et al. 1996)	Standard 60°C	
A.a.	Aa-16S-1	AATAGCATGCCAACTTGACG	*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*	(Ashimoto, Chen et al. 1996)	Standard 60°C	84,00°C
	Aa-16S-R	AAACCCATCTCTGAGTTCTTC	*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*	(Ashimoto, Chen et al. 1996)	Standard 60°C	
	Aa-16S-1E	AATAGATAACATCATTGACG	*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*	Peters U, UKD Eigenbestand	Standard 60°C	
	Aa-16S-Rv	TCCCGTATCTCTACAGGATTC	*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*	Peters U, UKD Eigenbestand	Standard 60°C	
P.g.	Pg-16S-F	AGGCAGCTTGCCATACTGCG	*Porphyromonas gingivalis*	(Ashimoto, Chen et al. 1996)	Standard 60°C	83,50°C
	Pg-16S-R	ACTGTTAGCAACTACCGATGT	*Porphyromonas gingivalis*	(Ashimoto, Chen et al. 1996)	Standard 60°C	
E.c.	Ec-16S-MF	CCACTTTTTGCTGACGGTACC	*Eikenella corrodens*	(Ashimoto, Chen et al. 1996)	Standard 60°C	83,00°C
	Ec-16S-R	CTACTAAGCAATCAAGTTGCCC	*Eikenella corrodens*	(Ashimoto, Chen et al. 1996)	Standard 60°C	
P.i.	Pit1	CAAAGATTCATGGGTGGA	*Prevotella intermedia*	(Stubbs, Park et al. 1999)	Standard 60°C	83,50°C
	Pit2	GCCGGTCCTTATTCGAAG	*Prevotella intermedia*	(Stubbs, Park et al. 1999)	Standard 60°C	
S.sang.	MKP-F1	ACAGCTTCTGCGGACCAAGC	*Streptococcus sanguinis*	(Hoshino, Kawaguchi et al. 2004)	Standard 60°C	83,00°C
	MKP-R	GAACAGTTGCTGGACTTGCTTGTC	*Streptococcus sanguinis*	(Hoshino, Kawaguchi et al. 2004)	Standard 60°C	

Bakterium	Primer	Sequenz 5´-3´	Art	Quelle	PCR-Bedingung	Melt-Point
S.mitis	Strep-Mitis-F	GAAGGAGGAGCTTGCTTCTC	*Streptococcus mitis*	Peters U, UKD Eigenbestand	Standard 60°C	84,50°C
	Strep-Mitis-R	GCGTTGCTCGGTCAGACTTC	*Streptococcus mitis*	Peters U, UKD Eigenbestand	Standard 60°C	
Act.	act-174-F	GGTCTCTGGGCCGTTACTGA	*Actinomyces spec*	(Ellerbrock 2010)	Standard 60°C	83,00°C
	act-281-R	GRCCCCCCACACCTAGTG	*Actinomyces spec*	(Ellerbrock 2010)	Standard 60°C	
Veill.	PARF	GAAGCATTGGAAGCGAAAGTTTCG	*Veillonela parvula*	Peters U, UKD Eigenbestand	Standard 60°C	79,00°C
	Veill-R	GCACCRTCAAATACAGGTGTAGC	*Veillonela parvula*	Peters U, UKD Eigenbestand	Standard 60°C	
P.n.	Pn-16S-F	ATGAAACAAAGGTTTTCCGGTAAG	*Prevotella nigrescens*	(Ashimoto, Chen et al. 1996)	Standard 63°C	85,50°C
	Pn-16S-R	CACGTCTCTGTGGGCTGCGA	*Prevotelle nigrescens*	(Ashimoto, Chen et al. 1996)	Standard 63°C	
T.f.	Bf-16S-F	GCGTATGTAACCTGCCCGCA	*Tannerella forsythia*	(Ashimoto, Chen et al. 1996)	Standard 63°C	83,50°C
	Bf-16S-R	TGCTTCAGTGTCAGTTATACCT	*Tannerella forsythia*	(Ashimoto, Chen et al. 1996)	Standard 63°C	
S.mutans	MKD-FV	GGCACCACAACATTGGGAAGCTCAG	*Streptococcus mutans*	(Hoshino, Kawaguchi et al. 2004)	Standard 63°C	80,50°C
	MKD-RV	GGAATGGCCGCTAAGTCAACAGG	*Streptococcus mutans*	(Hoshino, Kawaguchi et al. 2004)	Standard 63°C	
C.albicans	CALB1-F	TTTATCAACTTGTCACACCAG	*Candida albicans*	(Estrada-Barraza, Davalos Martinez et al. 2011)	Standard 60°C	82,00°C
	CALB1-R	ATCCCGCCTTACCACTACCG	*Candida albicans*	(Estrada-Barraza, Davalos Martinez et al. 2011)	Standard 60°C	

Tabelle 27: Datentabelle der klinischen Parameter

Lab-Nr.	Drop-out 1=ja, 0=nein	Lösung	Gruppe 1=Verum, 0=Placebo	Geschlecht 1=weibl., 0=männl.	Alter	Raucher 1=ja, 0=nein	Zahn-an-zahl	API_V2	API_V5	API_V6	API_V7	API_V8	SBI_V2	SBI_V5	SBI_V6	SBI_V7	SBI_V8
SA-001	0	SA-1-09	1	1	25	1	29	0,16	0,28	0,64			0,00	0,00	0,12		
SA-011	0	SA-1-10	1	1	28	0	28	0,13	0,21	0,13			0,00	0,00	0,00		
SA-020	0	SA-1-14	1	1	23	0	28	0,33	0,33	0,08			0,17	0,04	0,21		
SA-036	0	SA-1-21	0	1	22	0	28	0,96	0,50	0,54			0,96	0,46	0,29		
SA-054	0	SA-1-19	0	1	31	0	27	0,25	0,42	0,50			0,50	0,13	0,71		
SA-086	0	SA-1-11	0	1	32	0	27	0,21	0,54	0,46			0,04	0,04	0,25		
SA-088	0	SA-1-2	1	1	45	0	28	0,29	0,42	0,13			0,21	0,17	0,04		
SA-095	0	SA-1-22	0	0	67	0	28	0,56	0,40	0,28			0,28	0,20	0,36		
SA-098	0	SA-1-7	1	1	33	1	29	0,22	0,07	0,07			0,37	0,15	0,19		
SA-100	0	SA-1-4	1	0	60	0	25	0,29	0,21	0,13			0,42	0,04	0,08		
SA-103	0	SA-1-3	0	0	27	1	32	0,46	0,43	0,36			0,25	0,14	0,11		
SA-105	0	SA-1-6	0	1	58	0	22	0,91	0,27	0,18			0,36	0,09	0,23		
SA-110	0	SA-1-1	1	1	60	0	28	0,67	0,46	0,42			0,29	0,00	0,08		
SA-112	0	SA-1-12	0	0	53	0	27	0,36	0,64	0,28			0,60	0,24	0,04		
SA-116	0	SA-1-17	1	1	50	0	28	0,25	0,29	0,21			0,17	0,08	0,17		
SA-118	0	SA-1-15	0	1	51	0	27	0,38	0,21	0,13			0,21	0,04	0,21		
SA-120	0	SA-1-16	0	1	32	0	28	0,38	0,17	0,21	0,29	0,50	0,38	0,17	0,29	0,13	0,17
SA-123	0	SA-1-25	1	0	29	0	28	0,58	0,38	0,38			0,29	0,25	0,13		
SA-124	0	SA-1-26	1	1	31	0	31	0,89	0,52	0,74			0,74	0,52	0,30		
SA-126	0	SA-1-24	0	0	34	0	30	0,54	0,89	0,58	0,85	0,89	0,73	0,73	0,15	0,77	0,54
SA-138	0	SA-1-55	1	1	45	0	26	0,33	0,17	0,13	0,33	0,25	0,21	0,08	0,21	0,21	0,21
SA-139	0	SA-1-18	1	0	64	0	26	0,74	0,74	0,61			0,22	0,04	0,04		
SA-140	0	SA-1-20	1	0	32	0	29	0,62	0,46	0,46			0,23	0,19	0,27		
SA-149	0	SA-1-28	0	1	37	0	26	0,59	0,27	0,27			0,27	0,05	0,00		

Lab-Nr.	Drop-out 1=ja, 0=nein	Lösung	Gruppe 1=Verum, 0=Placebo	Geschlecht 1=weibl., 0=männl.	Alter	Raucher 1=ja, 0=nein	Zahn an-zahl	API_V2	API_V5	API_V6	API_V7	API_V8	SBI_V2	SBI_V5	SBI_V6	SBI_V7	SBI_V8
SA-163	0	SA-1-23	1	0	60	0	24	0,43	0,38	0,19			0,24	0,05	0,14		
SA-170	0	SA-1-27	0	1	27	1	31	0,26	0,19	0,26			0,30	0,19	0,26		
SA-190	0	SA-1-32	0	1	58	0	26	0,71	0,21	0,38			0,21	0,08	0,17		
SA-191	0	SA-1-38	0	1	34	0	31	0,36	0,11	0,43			0,07	0,18	0,14		
SA-195	0	SA-1-31	0	1	39	0	28	0,67	0,38	0,38			0,17	0,29	0,25		
SA-200	0	SA-1-29	1	1	63	0	27	0,79	0,79	0,79			0,17	0,04	0,13		
SA-212	0	SA-1-36	1	1	38	0	30	0,73	0,35	0,42			0,62	0,12	0,12		
SA-213	0	SA-1-37	0	1	53	0	26	0,50	0,27	0,32			0,46	0,18	0,23		
SA-214	0	SA-1-33	1	1	52	0	27	0,67	0,42	0,71			0,54	0,17	0,33		
SA-218	0	SA-1-34	1	0	69	0	23	0,26	0,26	0,17			0,22	0,09	0,04		
SA-226	0	SA-1-35	0	1	49	0	30	0,27	0,08	0,35			0,23	0,08	0,08		
SA-041	1			1	29												
SA-106	1			1	48												
SA-155	1			1	44												
SA-174	1			1	31												
SA-182	1			1	29												
SA-188	1	SA-1-30	1	1	25	0	24										
SA-252	1	SA-1-39	1	1	29	0	32										

Tabelle 28: Mikrobiologische Befunde *P.g.* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	*P.g.* _PCR_V1	*P.g.* _PCR_V2	*P.g.* _PCR_V3	*P.g.* _PCR_V4	*P.g.* _PCR_V5	*P.g.* _PCR_V6	*P.g.* _PCR_V7	*P.g.* _PCR_V8
SA-001	0,0008	0	0,0001	0,0001	0	0,0005		
SA-011	0,004	0,02	0	0	0,001	0,04		
SA-020	0,2	0,0002	0,0003	0,002	0,0007	0,01		
SA-036	0,8	0,08	0,01	0,005	0,02	0,02		
SA-054	0,00006	0	0	0	0,0002	0,001		
SA-086	0,001	0,002	0,0001	0,002	0,0008	0,004		
SA-088	0,00005	0,00008	0,00008	0,0001	0,0002	0,0004		
SA-095	0,009	0,0006	0,001	0,0008	0,007	0,01		
SA-098	0,7	0,02	0,01	0,0003	0,05	0,05		
SA-100	0,08	0,03	0,007	0,02	0,1	0,03		
SA-103	1	0,03	0,004	0,004	0,07	0,07		
SA-105	0,008	0,09	0,0003	0,01	0,0003	0,0004		
SA-110	0,0001	0,004	0,0003	0	0,0001	0,001		
SA-112	0,05	0,01	0,0002	0,001	0,003	0,02		
SA-116	0,08	0,001	0,004	0,02	1	0,007		
SA-118	0,03	0,005	0,00003	0,02	0,0004	0,007		
SA-120	0,002	0,003	0	0	0	0	0	0
SA-123	0,08	0,3	0,03	0,02	0,02	0,09		
SA-124	0,1	0,3	3	0,09	2	0,05		
SA-126	0,0006	0,0004	0	0	0	0	0	0
SA-138	0,002	0	0	0	0	0	0	0
SA-139	0,01	0,008	0,01	0,002	0,04	0,04		
SA-140	1,4	0,05	0,09	0,006	0,4	0,5		
SA-149	0,03	0,01	0,01	0,009	0,06	0,7		
SA-163	0,04	0,08	0,06	0,006	0,03	0,02		
SA-170	0,02	0,002	0,0001	0,003	0,01	0,003		
SA-190	0,01	0,0004	0,03	0,0008	0,001	0,04		
SA-191	0,004	0,2	0,06	0,004	0,002	0,003		
SA-195	1	0,2	0,02	0,5	0,001	0,01		
SA-200	0,005	0,007	0,004	0,001	0,006	0,002		
SA-212	0,4	0,6	0,2	3	0,06	0,3		
SA-213	0,05	0,01	0,02	0,02	0,0001	0,2		
SA-214	0,0006	0,00005	0,0001	0,001	0,0006	0,007		
SA-218	0,03	0,7	0,03	0,07	0,1	0,2		
SA-226	0,3	0,1	0,02	0,08	0,06	0,03		

Gruppe		Pg_PCR_V1	Pg_PCR_V2	Pg_PCR_V3	Pg_PCR_V4	Pg_PCR_V5	Pg_PCR_V6
Placebo	**Mittelwert**	0,194980	0,043729	0,010337	0,038800	0,013871	0,065788
	N	17	17	17	17	17	17
	Standard-abweichung	0,3615223	0,0676546	0,0160090	0,1203798	0,0242310	0,1704601
Verum	**Mittelwert**	0,174031	0,117796	0,191438	0,179917	0,211589	0,074883
	N	18	18	18	18	18	18
	Standard-abweichung	0,3545243	0,2157018	0,7026885	0,7042569	0,5077737	0,1321470

Tabelle 29: Mikrobiologische Befunde *A.a.* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	***A.a.*** **_PCR_V1**	***A.a.*** **_PCR_V2**	***A.a.*** **_PCR_V3**	***A.a.*** **_PCR_V4**	***A.a.*** **_PCR_V5**	***A.a.*** **_PCR_V6**	***A.a.*** **_PCR_V7**	***A.a.*** **_PCR_V8**
SA-001	0	0	0	0	0	0		
SA-011	0	0	0	0	0	0		
SA-020	0	0	0	0	0	0		
SA-036	0	0	0	0	0	0		
SA-054	0	0	0	0	0	0		
SA-086	0	0	0,02	0,06	0,1	0		
SA-088	0,002	0	0,008	0,03	0,1	0,003		
SA-095	0	0	0	0	0	0		
SA-098	0,4	0,01	0,004	0,03	0,07	0,004		
SA-100	0	0	0	0	0	0		
SA-103	0	0	0	0	0	0		
SA-105	0	0	0	0	0	0		
SA-110	0	0	0	0	0	0		
SA-112	0	0	0	0	0	0		
SA-116	0	0	0	0	0	0		
SA-118	0,01	0	0	0,02	0,06	0		
SA-120	0	0	0	0	0	0	0	0
SA-123	0	0	0	0	0	0		
SA-124	0	0	0	0	0	0		
SA-126	0	0	0	0	0	0	0	0
SA-138	0	0	0	0	0	0	0	0
SA-139	0	0	0	0	0	0		
SA-140	0,005	0	0,00007	0,001	0,001	0,02		
SA-149	0	0	0	0	0	0		
SA-163	0	0	0	0	0	0		
SA-170	0	0	0	0	0	0		
SA-190	0,01	0,004	0,02	0,002	0,02	0,02		
SA-191	0,003	0,003	0,001	0,002	0,005	0,006		
SA-195	0	0	0,005	0,002	0,0003	0		
SA-200	0	0	0	0	0	0		
SA-212	0	0	0	0,0002	0,0009	0,0001		
SA-213	0,001	0,0004	0,0004	0,0003	0,0002	0,0001		
SA-214	0	0	0	0	0	0		
SA-218	0	0	0	0	0	0		
SA-226	0	0	0	0	0	0		

Tabelle 30: Mikrobiologische Befunde *T.d.* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	*T.d.* _PCR_V1	*T.d.* _PCR_V2	*T.d.* _PCR_V3	*T.d.* _PCR_V4	*T.d.* _PCR_V5	*T.d.* _PCR_V6	*T.d.* _PCR_V7	*T.d.* _PCR_V8
SA-001	0,01	0,0006	0,0001	0,00001	0,00003	0,0002		
SA-011	0	0	0	0	0	0,009		
SA-020	0,2	0,00003	0,001	0,001	0,001	0,0001		
SA-036	0,05	0,003	0,005	0,0001	0,001	0,02		
SA-054	0	0	0	0	0	0		
SA-086	0	0	0	0	0	0		
SA-088	0	0	0	0	0	0		
SA-095	0,0003	0,0003	0,01	0,008	0,006	0,004		
SA-098	0,07	0,0005	0,0001	0,002	0,04	0,005		
SA-100	0,2	0,006	0,005	0,2	0,07	0,03		
SA-103	0,05	0,01	0,0005	0,02	0,06	0,07		
SA-105	0,01	0,004	0	0,003	0,0003	0,0006		
SA-110	0	0	0	0	0	0		
SA-112	0,1	0,001	0,00003	0,0001	0,0004	0,001		
SA-116	0,007	0,0005	0,01	0,03	0,02	0,02		
SA-118	0,0002	0,0004	0,0004	0,009	0,0007	0,00002		
SA-120	0,00005	0,0006	0,000005	0,00008	0,0003	0,01	0,01	0,0006
SA-123	0,3	0,07	0,01	0,03	0,04	0,3		
SA-124	0,2	0,05	0,02	0,04	0,03	0,008		
SA-126	0	0	0	0	0	0	0	0
SA-138	0,001	0	0	0	0,0001	0,0002	0,0002	0,001
SA-139	0,01	0,01	0,0008	0,0001	0,007	0,01		
SA-140	0,07	0,0008	0,06	0,0002	0,007	0,2		
SA-149	0,007	0,007	0,0001	0,0002	0,002	0,008		
SA-163	0	0	0	0	0	0		
SA-170	0,006	0,0007	0,00005	0,002	0,002	0		
SA-190	0,03	0,001	0,0002	0,0002	0,01	0,07		
SA-191	0,002	0	0,002	0	0	0,0005		
SA-195	0,2	0,05	0,06	0,4	0,002	0,1		
SA-200	0,02	0,004	0,002	0,0003	0,01	0,01		
SA-212	0,003	0,08	0,002	0,02	0,01	0,01		
SA-213	0,005	0,006	0,02	0,000005	0,0004	0,1		
SA-214	0,00008	0	0	0	0,0003	0,001		
SA-218	0,001	0,2	0,002	0,03	0,02	0,02		
SA-226	0,02	0,001	0,0004	0,0004	0,003	0,0004		

Tabelle 31: Mikrobiologische Befunde *T.f.* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	*T.f.* _PCR_V1	T.f. _PCR_V2	T.f. _PCR_V3	T.f. _PCR_V4	T.f. _PCR_V5	T.f. _PCR_V6	T.f. _PCR_V7	T.f. _PCR_V8
SA-001	0,001	0,004	0,0005	0	0	0		
SA-011	0,009	0,3	0	0	0,002	0,1		
SA-020	0,04	0	0	0	0,02	0,0003		
SA-036	0,09	0,004	0,004	0,0001	0,0006	0,002		
SA-054	0,02	0,02	0	0,008	0	0,01		
SA-086	0,1	0,01	0,0004	0	0,008	0,01		
SA-088	0	0	0	0	0	0		
SA-095	0,001	0,001	0,002	0,005	0,0005	0,005		
SA-098	0,03	0,0004	0	0,009	0,0009	0,03		
SA-100	0	0,2	0,08	0,3	0,4	0,2		
SA-103	3	0,006	0,008	0,01	0,1	0,002		
SA-105	0,2	0	0	0,001	0,007	0,002		
SA-110	0,05	0,06	0	0,02	0,07	0,002		
SA-112	0	0	0	0	0	0		
SA-116	0,001	0,002	0	0,006	0,01	0,002		
SA-118	0,01	0	0,001	0,002	0	0		
SA-120	0	0	0	0	0	0	0,02	0,009
SA-123	0,1	0,2	0,02	0,04	0,07	0,03		
SA-124	0,02	0,06	0,08	0,04	0,06	0,007		
SA-126	0,03	0,006	0,007	0,02	0,04	0,003	0,2	0,08
SA-138	0	0	0	0	0	0	0,005	0,01
SA-139	0,007	0	0	0	0	0		
SA-140	0,2	0,01	0,1	0	0,02	0,1		
SA-149	0,05	0,03	0,007	0,0009	0,007	0,02		
SA-163	0	0	0	0	0	0		
SA-170	0	0	0	0	0	0		
SA-190	0,06	0	0	0	0,009	0,07		
SA-191	0	0	0	0	0	0		
SA-195	0,3	0,06	0,09	0,1	0,06	0,1		
SA-200	0,07	0,05	0,2	0,08	0,2	0,2		
SA-212	0,3	0,1	0,01	0,07	0,05	0,1		
SA-213	0,06	0,01	0,02	0,02	0,07	0,3		
SA-214	0,03	0,004	0,002	0,005	0,002	0,02		
SA-218	0,003	0,2	0,009	0,005	0,02	0,01		
SA-226	0,005	0,07	0,002	0,01	0,01	0,004		

Tabelle 32: Mikrobiologische Befunde *P.n.* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	*P.n.* _PCR_V1	*P.n.* _PCR_V2	*P.n.* _PCR_V3	*P.n.* _PCR_V4	*P.n.* _PCR_V5	*P.n.* _PCR_V6	*P.n.* _PCR_V7	*P.n.* _PCR_V8
SA-001	6	0,2	0,004	0,01	0,5	3		
SA-011	2	0,1	0,001	0,002	0,5	2		
SA-020	0	0	0	0	0,007	0		
SA-036	0,09	0,02	0,004	0,0002	0,02	2		
SA-054	0,1	0	0	0,002	0,0006	0,01		
SA-086	5	0,2	0,02	0,05	0,2	1		
SA-088	0,002	0,004	0,007	0,004	0,05	0,07		
SA-095	0,007	0	0,03	0,02	0,04	0,07		
SA-098	0,7	0,2	0,008	0,01	0,1	0,3		
SA-100	8	4	1	2	2	2		
SA-103	60	0,2	0,3	10	20	7		
SA-105	0,7	0,03	0	0,03	0,04	1		
SA-110	10	30	0,02	0,2	8	7		
SA-112	0	0	0	0	0	0		
SA-116	0	0	0	0	0,01	0		
SA-118	0	0	0	0,02	0,05	0		
SA-120	3	0	0	0,01	0,04	2	0,08	0,02
SA-123	2	0,4	0,01	0,6	2	0,8		
SA-124	0,04	0	0	0,1	0,3	0		
SA-126	0,1	0,006	0,2	0,4	1	0,02	0,6	0,2
SA-138	0,1	0	0	0,004	0,04	0,04	0,1	0,4
SA-139	0,03	0	0	0	0	0,01		
SA-140	0,8	0	0	0	0	0,4		
SA-149	2	0,1	0,04	0,08	0,2	0,6		
SA-163	0	0	0	0	0	0		
SA-170	0,1	0,02	0,002	0,2	0,2	0,01		
SA-190	0,08	0,01	0,02	0,02	0,8	1		
SA-191	0,6	0,1	0,6	0,1	1	1		
SA-195	2	0,1	0,06	2	0,6	1		
SA-200	0,2	0,04	0,06	0,02	0,4	0,4		
SA-212	0,2	0,04	0,01	0,4	2	1		
SA-213	0,01	0,004	0,02	0,06	0,06	0,2		
SA-214	0,2	0,004	0,002	0,02	0,02	1		
SA-218	0	0	0	0	0	0		
SA-226	0,02	0,01	0,008	0,04	0,2	0,06		

Tabelle 33: Mikrobiologische Befunde *P.i.* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	*P.i.* _PCR_V1	*P.i.* _PCR_V2	*P.i.* _PCR_V3	*P.i.* _PCR_V4	*P.i.* _PCR_V5	*P.i.* _PCR_V6	*P.i.* _PCR_V7	*P.i.* _PCR_V8
SA-001	0	0	0,0004	0,0006	0	0		
SA-011	0,004	0,002	0,00002	0	0,001	0		
SA-020	0	0	0	0,001	0,0002	0		
SA-036	0,02	0,01	0,004	0,002	0,007	0,0003		
SA-054	0,00002	0	0	0	0,00001	0,0002		
SA-086	0	0	0	0	0	0		
SA-088	0	0	0	0	0	0		
SA-095	0,03	0,001	0,008	0,003	0,003	0,007		
SA-098	0,3	0,002	0,002	0,05	0,07	0,02		
SA-100	0	0	0	0	0	0		
SA-103	0,005	0,00007	0,0003	0,0001	0,007	0,0008		
SA-105	0,2	0,002	0,0009	0,1	0,2	0,03		
SA-110	0,08	0,02	0,01	0,01	0,07	0,05		
SA-112	0	0	0	0	0	0		
SA-116	0	0	0	0	0	0		
SA-118	0,0002	0,00007	0	0	0,00001	0,001		
SA-120	0	0,0008	0	0	0	0	0	0
SA-123	0,2	0,2	0,004	0,01	0,002	0,002		
SA-124	0,4	0,8	0,06	2	2	0,2		
SA-126	0	0	0	0	0	0	0	0
SA-138	0,001	0	0	0	0	0	0	0
SA-139	0	0	0	0	0	0		
SA-140	0,08	0,0018	0,006	0,02	0,8	1,8		
SA-149	0	0	0	0	0	0		
SA-163	0	0	0	0	0	0		
SA-170	0	0	0	0	0	0		
SA-190	0,1	0,0008	0,004	0,002	0,02	0,2		
SA-191	0	0,001	0,02	0,008	0,0006	0,0006		
SA-195	0	0	0	0	0	0		
SA-200	0,2	0,006	0,01	0,0004	0,006	0,002		
SA-212	0,00008	0,0004	0,00008	0,00001	0,00004	0,0002		
SA-213	0,0008	0,00008	0,00002	0	0,00001	0,00004		
SA-214	0,002	0,0001	0,0004	0,002	0,002	0,04		
SA-218	0	0	0	0	0	0		
SA-226	0	0	0	0	0	0		

Tabelle 34: Mikrobiologische Befunde *E.c.* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	*E.c.* _PCR_V1	*E.c.* _PCR_V2	*E.c.* _PCR_V3	*E.c.* _PCR_V4	*E.c.* _PCR_V5	*E.c.* _PCR_V6	*E.c.* _PCR_V7	*E.c.* _PCR_V8
SA-001	0,05	0,004	0,0002	0,0002	0,003	0,2		
SA-011	0,06	0,02	0,05	0,02	0,07	0,2		
SA-020	0,4	0,01	0,3	0,07	0,1	0,1		
SA-036	0,9	0,1	2	5	0,5	1		
SA-054	0,8	0,4	0,3	0,1	0,08	2		
SA-086	0,5	0,05	0,2	0,2	0,05	0,5		
SA-088	0,2	0,006	0,1	0,08	0,03	0,3		
SA-095	2	0,02	1	0,5	0,2	0,5		
SA-098	0,4	0,07	0,03	0,2	0,05	0,2		
SA-100	1	0,08	0,5	0,4	0,6	0,4		
SA-103	0,05	0,01	0,02	0,05	0,04	0,2		
SA-105	1	0,2	1	0,5	0,6	0,5		
SA-110	0,8	0,01	0,002	0,1	0,1	0,1		
SA-112	2	0,006	0,04	0,04	0,1	0,5		
SA-116	0,1	0,01	0,03	0,09	0,08	0,08		
SA-118	0,1	0,02	0,09	0,2	0,6	0,1		
SA-120	0,6	0,04	0,05	0,9	0,2	0,4	0,6	0,3
SA-123	1	0,6	1	0,6	1	1		
SA-124	3	0,05	0,1	0,2	0,8	0,7		
SA-126	2	0,1	0,4	0,3	0,8	1	0,9	0,6
SA-138	3	1	2	12	3	6	4	2
SA-139	0,4	0,08	0,4	0,2	0,08	0,8		
SA-140	0,2	0,009	0,08	0,08	0,2	0,1		
SA-149	0,8	0,1	0,8	1	2	2		
SA-163	0,5	0,06	0,8	0,03	0,02	0,01		
SA-170	0,2	0	0	0,02	0,07	2		
SA-190	0,9	0,2	0,5	0,1	2	2		
SA-191	2	0,9	1	0,7	0,3	1		
SA-195	0,2	0,5	0,2	0,2	0,1	0,1		
SA-200	5	0,2	0,5	4	0,7	1		
SA-212	0,06	0,07	1	0,2	0,3	0,3		
SA-213	2	0,9	1	0,9	1	0,5		
SA-214	0,4	0,05	0,7	0,2	3	2		
SA-218	0,5	0,4	0,4	0,3	0,6	3		
SA-226	0,6	0,04	0,001	0,03	0,2	0,03		

Tabelle 35: Mikrobiologische Befunde *S.mutans* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	*S. mutans* _PCR_V1	*S. mutans* _PCR_V2	*S. mutans* _PCR_V3	*S. mutans* _PCR_V4	*S. mutans* _PCR_V5	*S. mutans* _PCR_V6	*S. mutans* _PCR_V7	*S. mutans* _PCR_V8
SA-001	0,3	0,02	0,0006	0,01	0,03	0,2		
SA-011	0,6	0,01	0,4	2	0,1	0,1		
SA-020	0	0	0	0	0,007	0		
SA-036	0,02	0,007	0,03	0,002	0,04	0,03		
SA-054	0	0	0	0	0	0		
SA-086	0,001	0	0	0	0	0,0005		
SA-088	0,006	0	0	0,002	0,02	0,0008		
SA-095	0,01	0,01	0,02	0,05	0,005	0,05		
SA-098	0,3	0,004	0	0,09	0,009	0,07		
SA-100	0,03	0	0,008	0,002	0	0,006		
SA-103	0,6	0,08	0,1	0,04	0,1	0,04		
SA-105	0	0	0	0	0	0		
SA-110	0	0	0	0	0	0		
SA-112	0	0,0009	0,002	0,00005	0	0		
SA-116	0	0,0003	0	0	0,006	0		
SA-118	0,06	0,02	0,03	0,2	0,07	0		
SA-120	0	0	0	0	0	0	0,00005	0,0003
SA-123	0	0	0	0	0	0		
SA-124	0	0	0	0,003	0,0009	0		
SA-126	0,02	0,002	0,01	0,009	0,01	0,005	0,009	0,01
SA-138	0,4	0,08	0,5	0,2	0,2	0,1	0,08	0,1
SA-139	0,1	0,02	0,4	0,02	0,01	0,5		
SA-140	0	0	0	0	0	0		
SA-149	0,003	0,008	0,007	0,0009	0,005	0		
SA-163	0,04	0,01	0,004	0,005	0,1	0,006		
SA-170	0	0	0	0	0	0		
SA-190	0,04	0,02	0,2	0,1	0,7	0,02		
SA-191	0,01	0,005	0,03	0,02	0,01	0,008		
SA-195	0,001	0,0004	0,005	0,003	0,001	0,007		
SA-200	0,0006	0,001	0,005	0,003	0,02	0,002		
SA-212	0,03	0,002	0,03	0,02	0,01	0,005		
SA-213	0,01	0,003	0,002	0,01	0,007	0,3		
SA-214	0,002	0,005	0,002	0,07	0,003	0,01		
SA-218	0,0008	0,7	0,009	0,02	0,008	0,005		
SA-226	0,02	0,007	0,008	0,05	0,02	0,02		

Tabelle 36: Mikrobiologische Befunde *C.albicans* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	*C.albicans* _PCR_V1	*C.albicans* _PCR_V2	*C.albicans* _PCR_V3	*C.albicans* _PCR_V4	*C.albicans* _PCR_V5	*C.albicans* _PCR_V6	*C.albicans* _PCR_V7	*C.albicans* _PCR_V8
SA-001	1	1	1	1	1	1		
SA-011	1	0	1	1	1	0		
SA-020	0							
SA-036	0							
SA-054	0							
SA-086	0							
SA-088	0							
SA-095	0							
SA-098	1	1	1	1	1	1		
SA-100	0							
SA-103	1	1	1	1	1	1		
SA-105	0							
SA-110	0							
SA-112	0							
SA-116	0							
SA-118	0							
SA-120	0							
SA-123	0							
SA-124	1	1	1	1	1	1		
SA-126	0							
SA-138	0							
SA-139	1	1	1	1	1	0		
SA-140	0							
SA-149	0							
SA-163	0							
SA-170	1	1	1	1	1	0		
SA-190	1	1	1	0	1	1		
SA-191	0							
SA-195	0							
SA-200	1	0	0	0	0	0		
SA-212	0							
SA-213	0							
SA-214	0							
SA-218	1	1	1	1	1	1		
SA-226	1	1	1	1	1	1		

Tabelle 37: Mikrobiologische Befunde *S.sang.* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	*S. sang.* _PCR_V1	*S.sang.* _PCR_V2	*S.sang.* _PCR_V3	*S.sang.* _PCR_V4	*S.sang.* _PCR_V5	*S.sang.* _PCR_V6	*S.sang.* _PCR_V7	*S.sang.* _PCR_V8
SA-001	0,002	0	0,0001	0,001	0,003	0,03		
SA-011	0	0	0	0	0	0		
SA-020	0	0	0	0	0	0		
SA-036	0,004	0,02	0,05	0,1	0,15	0,01		
SA-054	2	0,02	0,2	0,01	0,03	0,005		
SA-086	0,003	0,04	1	2	0,2	0,01		
SA-088	0,01	0,0004	0,01	0,3	1	0,05		
SA-095	0	0	0	0	0	0		
SA-098	0,4	0,004	2	45	4	4		
SA-100	0	0	0	0	0	0		
SA-103	0,015	0,035	0,02	0,02	0,005	0,005		
SA-105	0,01	0,01	0,04	0,03	0,004	0,01		
SA-110	0,04	0,3	1	0,5	0,3	0,3		
SA-112	0,5	0,005	0,4	0,03	0,01	0,05		
SA-116	0,2	0,03	0,5	3	0,5	0,2		
SA-118	0,3	0,02	0,2	0,3	0,04	1		
SA-120	0,003	0,005	0,002	0,03	0,03	0,05	0,01	0,004
SA-123	0	0	0	0	0	0		
SA-124	0,001	0	0,003	0,01	0,0004	0,0005		
SA-126	4	0,05	0,5	2	1,5	4	0,3	0,05
SA-138	0	0	0	0	0	0	0	0
SA-139	0	0	0	0	0	0		
SA-140	0,1	0,005	0,2	3	0,5	0,04		
SA-149	0,05	0,2	0,2	0,5	1	0,3		
SA-163	3	0,04	2	0,3	0,5	0,035		
SA-170	0	0	0	0	0,2	0,5		
SA-190	0	0	0	0	0	0		
SA-191	0	0	0	0	0	0		
SA-195	0	0	0	0	0	0		
SA-200	0	0	0	0	0	0		
SA-212	0	0	0	0	0	0		
SA-213	0	0	0	0	0	0		
SA-214	0	0	0	0	0	0		
SA-218	0	0	0	0	0	0		
SA-226	0	0	0	0	0	0		

Tabelle 38: Mikrobiologische Befunde *S.mitis.* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	*S. mitis* _PCR_V1	*S. mitis* _PCR_V2	*S. mitis* _PCR_V3	*S. mitis* _PCR_V4	*S. mitis* _PCR_V5	*S. mitis* _PCR_V6	*S. mitis* _PCR_V7	*S. mitis* _PCR_V8
SA-001	6	6	10	1	15	34		
SA-011	5	15	38	15	5	10		
SA-020	25	6	10	5	10	9		
SA-036	12	14	27	26	44	12		
SA-054	12	3	13	17	9	18		
SA-086	26	6	3	4	6	15		
SA-088	25	2	2	3	10	31		
SA-095	61	0,4	22	19	5	24		
SA-098	7	10	21	13	22	26		
SA-100	2	0,8	4	2	3	5		
SA-103	6	9	5	5	2	1		
SA-105	5	6	8	8	2	3		
SA-110	1	2	9	42	7	8		
SA-112	19	3	14	7	6	3		
SA-116	10	4	18	17	8	8		
SA-118	4	1	4	6	8	9		
SA-120	29	19	9	9	20	14	10	10
SA-123	9	8	8	7	4	9		
SA-124	30	27	5	8	3	6		
SA-126	11	5	37	3	24	13	15	5
SA-138	6	15	2	10	2	31	2	8
SA-139	4	6	15	5	22	9		
SA-140	8	16	7	15	10	10		
SA-149	5	17	3	15	8	5		
SA-163	29	5	7	3	1	6		
SA-170	4	4	23	7	6	0,3		
SA-190	10	6	8	8	12	34		
SA-191	7	2	6	2	10	0,3		
SA-195	3	6	6	5	9	4		
SA-200	31	0,2	9	5	2	7		
SA-212	6	9	12	3	4	6		
SA-213	8	4	5	15	5	1		
SA-214	2	5	10	9	7	10		
SA-218	1	2	4	4	5	13		
SA-226	2	22	10	7	39	9		

Tabelle 39: Mikrobiologische Befunde *Veill.* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	*Veill.* _PCR_V1	Veill. _PCR_V2	Veill. _PCR_V3	*Veill.* _PCR_V4	Veill. _PCR_V5	Veill. _PCR_V6	Veill. _PCR_V7	Veill. _PCR_V8
SA-001	0,5	0,1	0,3	1	4	2		
SA-011	0,2	0,002	0,2	0,4	0,1	0,05		
SA-020	0,2	0,02	0,5	1	0,0005	0,3		
SA-036	0,2	0,04	2	3	4	1		
SA-054	0,1	0,006	0,6	0,5	0,1	0,5		
SA-086	0,2	0,1	0,2	0,5	0,5	0,5		
SA-088	0,04	0,0005	0,05	0,2	0,5	0,5		
SA-095	0,1	0,0025	0,2	0,5	0,1	0,0045		
SA-098	0,5	0,005	0,005	10	0,35	1		
SA-100	0,3	0,002	0,1	0,1	0,3	0,5		
SA-103	0,03	0,02	0,2	0,04	0,1	0,04		
SA-105	0,01	0,0002	0,0004	0,005	0,004	0,02		
SA-110	0,5	0,02	0,4	1	5	5		
SA-112	0,01	0,001	0,02	0,0005	0,01	0,4		
SA-116	0,5	0,01	0,5	1	2	3		
SA-118	0,0004	0,00003	0,03	0,03	0,005	2		
SA-120	0,02	0,005	0,005	0,4	0,1	0,2	0,3	0,06
SA-123	9	0,3	2	10	9	0,5		
SA-124	0,2	0,05	3	4	2	0,4		
SA-126	4	0,1	7	40	20	0,9	5	4
SA-138	5	0,5	33	9	10	10	2	2
SA-139	0,2	0,05	0,5	0,2	0,1	0,5		
SA-140	0,2	0,002	1	1	1	0,5		
SA-149	2	0,9	3	10	20	10		
SA-163	0,2	0,005	0,4	0,03	0,004	0,01		
SA-170	2	0,06	0,4	10	3	0,01		
SA-190	4	1	2	2	6	10		
SA-191	5	1	30	10	30	7		
SA-195	0,3	0,5	1	0,7	3	1		
SA-200	2	0,07	30	20	9	5		
SA-212	0,2	0,1	10	8	7	2		
SA-213	1	0,03	4	3	4	2		
SA-214	0,6	0,1	0,1	2	6	20		
SA-218	10	4	0,5	10	10	3		
SA-226	20	0,2	4	10	10	10		

Tabelle 40: Mikrobiologische Befunde *Act.* zu acht Messzeitpunkten

Lab-Nr.	*Act.* _PCR_V1	*Act.* _PCR_V2	*Act.* _PCR_V3	*Act.* _PCR_V4	*Act.* _PCR_V5	*Act.* _PCR_V6	*Act.* _PCR_V7	*Act.* _PCR_V8
SA-001	12	2	1	24	4	15		
SA-011	26	4	3	10	4	10		
SA-020	6	7	6	4	11	9		
SA-036	3	5	5	3	6	8		
SA-054	16	12	8	4	6	4		
SA-086	5	6	5	10	6	5		
SA-088	3	2	2	9	13	6		
SA-095	2	3	2	3	11	7		
SA-098	43	2	3	17	18	14		
SA-100	4	0,6	2	2	4	2		
SA-103	5	9	9	6	3	4		
SA-105	3	1	2	5	0,8	3		
SA-110	3	5	14	8	10	7		
SA-112	14	7	6	2	2	7		
SA-116	17	9	26	16	7	6		
SA-118	11	4	7	9	4	12		
SA-120	2	3	2	3	9	10	3	3
SA-123	2	5	14	2	9	10		
SA-124	3	5	10	3	5	6		
SA-126	20	5	4	9	3	22	5	5
SA-138	13	7	12	28	12	22	10	18
SA-139	21	13	9	4	7	8		
SA-140	9	6	5	4	7	5		
SA-149	8	9	9	16	11	13		
SA-163	11	9	33	11	34	17		
SA-170	5	9	8	4	12	43		
SA-190	5	7	12	8	18	5		
SA-191	9	23	9	15	28	25		
SA-195	3	4	3	9	5	4		
SA-200	4	1	4	4	15	7		
SA-212	1	3	6	3	2	2		
SA-213	2	2	1	3	2	1		
SA-214	1	5	7	7	12	20		
SA-218	1	20	4	9	5	12		
SA-226	12	20	11	32	6	27		

Tabelle 41: Cytopathologische Ergebnisse

Proband/ Visit	Lösung	Befund	Gutachten
SA-001-V2	SA-1-09	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Etwas vermehrt Entzündungszellen, darunter Lymphozyten und wenige Granulozyten.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie.
SA-001-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich vereinzelt.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit minimaler entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie.
SA-011-V2	SA-1-10	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Etwas vermehrt Entzündungszellen, darunter Lymphozyten und wenige Granulozyten.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie.
SA-011-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, welches in oberen Zelllagen gelegentlich pyknotisch erscheint. Die Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund reichlich Bakterien. Weiter sieht man einzelne Parakeratosezellen mit dichtem Zytoplasma und kleinen pyknotischen Kernen. Entzündungszellen finden sich nicht vermehrt.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter, fokal parakeratotisch veränderter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie.
SA-020-V2	SA-1-14	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-020-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-036-V2	SA-1-21	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-036-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-054-V2	SA-1-19	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-054-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-086-V2	SA-1-11	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-086-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).**

		runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-088-V2	SA-1-2	Mikroskopisch erkennt man reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, welches in oberen Zelllagen gelegentlich pyknotisch ist. Die Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund reichlich Bakterien. Weiter sieht man einzelne Parakeratosezellen mit dichtem Zytoplasma und kleinen pyknotischen Kernen. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht fokal parakeratotisch veränderter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie.
SA-088-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-095-V2	SA-1-22	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien. Daneben einige Erythrozyten.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher und hämorrhagischer Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-095-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien. Außerdem Nachweis von einigen Erythrozyten.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher und hämorrhagischer Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. Nach zytologsichen Kriterien zeigen sich keine Veränderungen bei den Plattenepithelien. ICD -10: K12.1
SA-098-V2	SA-1-7	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Vermehrt Entzündungszellen, darunter Lymphozyten und auch Granulozyten.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit florider entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie.
SA-098-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich kaum.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit minimaler entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie.
SA-100-V2	SA-1-4	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien und etwas Blut. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. Begleitend eine leichtgradige frische hämorrhagische Komponente.
SA-100-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht. Mit erfasst einige Soorpilze.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie.
Sa-103-V2	SA-1-3	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-103-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-105-V2	SA-1-6	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Etwas vermehrt Entzündungszellen, darunter Lymphozyten und wenige Granulozyten.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie.

SA-105-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-110-V2	SA-1-1	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-110-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-112-V2	SA-1-12	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Etwas vermehrt Entzündungszellen, darunter Lymphozyten und wenige Granulozyten.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie.
SA-112-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-116-V2	SA-1-17	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-116-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-118-V2	SA-1-15	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht. Mehrere Zellen sind schlecht erhalten. Die Zellkerne sind teilweise nicht beurteilbar, teilweise nicht vorhanden.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. Schlecht erhaltene Zellen. C00-06
SA-118-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-120-V2	SA-1-16	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-120-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-123-V2	SA-1-25	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-123-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter

		erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. Unter zytologischen Kriterien kann man keine Veränderungen bei den Plattenepithelien feststellen. C00-06
SA-124-V2	SA-1-26	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-124-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-126-V2	SA-1-24	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, welches in oberen Zelllagen pyknotisch ist. Die Kernplasmarelation ist normal. Einzelne Plattenepithelien zeigen Keratohyalingranula und ein dichtes eosinrotes Zytoplasma. Vereinzelt sind auch kernlose Hornschüppchen erkennbar. Im Hintergrund reichlich Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht hyperkeratotischer Mundschleimhaut ohne Anhalt für Entzündung oder Dysplasie. ICD-10: K13.2 ICD-O: C00-06, SNOMED: M-72830
SA-126-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-138-V2	SA-1-55	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-138-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-139-V2	SA-1-18	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-139-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-140-V2	SA-1-20	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien sowie Erythrozyten. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie mit hämorrhagischer Komponente. C00-06
SA-140-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-149-V2	SA-1-28	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrecht gestaltete Plattenepithelien aus oberflächlichen und mittleren Schichten mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht hyperkeratotischer

		in Superfizialzellen pyknotisch ist. Die Kernplasmarelation ist normal. Einzelne Epithelien zeigen Keratohyalingranula und ein dichtes eosinrotes Zytoplasma. Daneben sieht man einzelne Lymphozyten, Granulozyten und Bakterien.	Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente ohne Anhalt für Dysplasie. ICD-10: K13.2 ICD-O: C00-06, SNOMED: M-72830
SA-149-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-163-V2	SA-1-23	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien. Daneben vereinzelte kernlose Hornschollen.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-163-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. Nach zytologischen Kriterien ist keine Unterschied der Plattenepithelien erkenbar. ICD -10: K12.1
SA-170-V2	SA-1-27	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-170-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-190-V2	SA-1-32	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrecht gestaltete Plattenepithelien aus oberflächlichen und mittleren Schichten mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das in Superfizialzellen pyknotisch ist. Die Kernplasmarelation ist normal. Einzelne Epithelien zeigen Keratohyalingranula und ein dichtes eosinrotes Zytoplasma. Daneben sieht man einzelne Lymphozyten, Granulozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht hyperkeratotischer Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente ohne Anhalt für Dysplasie. ICD-10: K13.2 ICD-O: C00-06, SNOMED: M-72830
SA-190-V5	Placebo	Die Ausstriche eines Mundschleimhautabstrich zeigen neben reichlich Superfizial- und wenigen Intermediärzellen abnorme, leicht dysplastische Plattenepithelien, die wenig entrundete, unterschiedlich gefärbte Kerne mit leicht irregulärer Chromatinverteilung aufweisen. Die Kernplasmarelation ist variabel, eine Nukleolenvergrößerung liegt aber nicht vor. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht sicher auszuschließen (= zweifelhaft).** Das Zellbild entspricht geringen Dysplasien der Plattenepithelien der Mundschleimhaut. Wir empfehlen eine Kontrolle des Befundes durch Abstrichnahme nach drei Monaten ICD-10: K13.2 ICD-O: C00-06, SNOMED: M-72830
SA-190 Kontrolle 3 Monate post		Mikroskopisch erkennt man reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie.
SA-191-V2	SA-1-38	Mikroskopisch erkennt man reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie.
SA-191-V5	Placebo	Mikroskopisch erkennt man reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Gelegentlich Tüpfelung des Zytoplasmas. Einzelne	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit minimalen, wohl reaktiven

		Parakeratosezellen. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich kaum.	Zellveränderungen, aber ohne Anhalt für Dysplasie.
SA-195-V2	SA-1-31	Die Ausstriche eines Mundschleimhautabstriches zeigen reichlich regelrecht gestaltete Plattenepithelien aus oberflächlichen und mittleren Schichten mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das in Superfizialzellen pyknotisch ist. Die Kernplasmarelation ist normal. Einzelne Epithelien zeigen Keratohyalingranula und ein dichtes eosinrotes Zytoplasma. Daneben sieht man einzelne Lymphozyten, Granulozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht hyperkeratotischer Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente ohne Anhalt für Dysplasie. ICD-10: K13.2 ICD-O: C00-06, SNOMED: M-72830
SA-195-V5	Placebo	Die Ausstriche eines Mundschleimhautabstriches zeigen reichlich regelrecht gestaltete Plattenepithelien aus oberflächlichen und mittleren Schichten mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das in Superfizialzellen pyknotisch ist. Die Kernplasmarelation ist normal. Einzelne Epithelien zeigen Keratohyalingranula und ein dichtes eosinrotes Zytoplasma. Daneben sieht man einzelne Lymphozyten, Granulozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht hyperkeratotischer Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente ohne Anhalt für Dysplasie. ICD-10: K13.2 ICD-O: C00-06, SNOMED: M-72830
SA-200-V2	SA-1-29	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-200-V5	Verum	Die Ausstriche eines Mundschleimhautabstriches zeigen reichlich regelrecht gestaltete Plattenepithelien aus oberflächlichen und mittleren Schichten mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das in Superfizialzellen pyknotisch ist. Die Kernplasmarelation ist normal. Einzelne Epithelien zeigen Keratohyalingranula und ein dichtes eosinrotes Zytoplasma. Daneben sieht man einzelne Lymphozyten, Granulozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht hyperkeratotischer Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente ohne Anhalt für Dysplasie. ICD-10: K13.2 ICD-O: C00-06, SNOMED: M-72830
SA-212-V2	SA-1-36	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-212-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-213-V2	SA-1-37	Die Ausstriche eines Mundschleimhautabstriches zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, welches in oberen Zelllagen pyknotisch ist. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Einzelne Plattenepithelien zeigen Keratohyalingranula und ein dichtes eosinrotes Zytoplasma. Vereinzelt sind auch kernlose Hornschüppchen erkennbar. Im Hintergrund reichlich Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht hyperkeratotischer Mundschleimhaut ohne Anhalt für Entzündung oder Dysplasie. ICD-10: K13.2 ICD-O: C00-06, SNOMED: M-72830.1
SA-213-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte superfizielle und intermediäre Plattenepithelien mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das gelegentlich pyknotisch erscheint. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Im Hintergrund sieht man Bakterien. Entzündungszellen finden sich nicht.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut ohne Anhalt für Dysplasie. C00-06
SA-214-V2	SA-1-33	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-214-V5	Verum	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1

SA-218-V2	SA-1-34	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-218-V5	Verum	Die Ausstriche eines Mundschleimhautabstriches zeigen reichlich regelrecht gestaltete Plattenepithelien aus oberflächlichen und mittleren Schichten mit gleich großen runden Kernen und feinkörnigem Chromatin, das in Superfizialtellen pyknotisch ist. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Einzelne Epithelien zeigen Keratohyalingranula und ein dichtes eosinrotes Zytoplasma. Daneben sieht man einzelne Lymphozyten, Granulozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht hyperkeratotischer Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente ohne Anhalt für Dysplasie. ICD-10: K13.2 ICD-O: C00-06, SNOMED: M-72830.1
SA-226-V2	SA-1-35	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien. Daneben ganz vereinzelt Erythrozyten sowie wenige Pilzhyphen.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente mit Nachweis von Pilzhyphen, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-226-V5	Placebo	Die Ausstriche von einem Mundschleimhautabstrich zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien. Daneben leicht vermehrte Erythrozyten.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente und hämorrhagischer Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-252-V2	SA-1-39	Die Ausstriche eines Mundschleimhautabstriches zeigen reichlich regelrechte Superfizial- und Intermediärzellen des Plattenepithels mit gleich großen runden Kernen, die ein feinkörniges Chromatin aufweisen. Ihre Kernplasmarelation ist normal. Weiter finden sich neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Bakterien.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente, aber ohne Anhalt für Dysplasie. ICD -10: K12.1
SA-252-V5	Verum	Zur Einsendung gelangten zwei Abstriche der Mundschleimhaut nach Anwendung der SA- Lösung. Mikroskopisch erkennt man darin reichlich Plattenepithelien mit unauffälligen rund- ovalen Kernen. Im Hintergrund zeigen sich wenige Bakterien sowie vereinzelt polymorphkernige Granulozyten und kernlose Hornschollen.	**Bösartige Zellen nicht nachweisbar (= negativ).** Das Zellbild entspricht regelrechter Mundschleimhaut mit geringer entzündlicher Komponente sowie geringer Hyperkeratose, ohne Anhalt für Dysplasie.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. dent. T. Beikler für das Überlassen dieses Dissertationsthemas und das mir entgegengebrachte Vertrauen und die Freiheit bei der Gestaltung und Durchführung dieser klinischen Studie.

Großen Dank schulde ich Frau Dipl.-Biol. Dr. rer. nat. Ulrike Peters und den Medizinisch-Technischen Assistentinnen Claudia Heier und Astrid Hoffmann für die exzellente Zusammenarbeit, fachliche Betreuung und ständige Ansprechbarkeit bei auftretenden Fragen.

Für die tatkräftige und organisatorische Unterstützung beim Screening und Hilfsbereitschaft in allen Belangen möchte ich mich ebenso ganz herzlich bei Frau Sonja Theisen und ZÄ Belinda Reinhardt bedanken.

Meinem Kollegen Herrn Dr. med. dent. Thorsten Blauhut sei gedankt für die stets schnelle Hilfe bei Computerproblemen aller Art.

Ebenfalls bedanke ich mich für das Korrekturlesen meiner Arbeit bei Herrn PD Dr. med. dent. David Sonntag und meiner Schwester Christine Borgert-Vieten.

Aufgrund ihrer immerwährenden liebevollen Unterstützung meines beruflichen Werdeganges bin ich meinen Eltern zu großer Dankbarkeit verpflichtet.
Ihnen widme ich von ganzem Herzen diese Arbeit.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

Düsseldorf, den

_____

Regina Sabine Adyani-Fard