

Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung,  
Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Geschäftsführender Vorstand:  
Prof. Dr. H.-J. Gabius

Arbeit angefertigt unter der Leitung von  
Prof. Dr. W. A. Rambeck

**Untersuchungen zum Einfluss von Vitamin C und  
Epigallocatechin Gallat in Kombination mit Lactoferrin  
auf die Zahngesundheit bei der Katze**

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

von  
Katrín Elsbett  
aus  
Hilpoltstein

München 2004

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle  
Referent: Prof. Dr. W. Rambeck  
Korreferentin: Univ.-Prof. Dr. U. Matis

Tag der Promotion: 23. Juli 2004

Meinen Eltern

## Inhaltsverzeichnis

<b>A</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>B</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>2</b>
<b>1</b>	<b>ZAHN- UND ZAHNHALTEAPPARAT (PARODONT) .....</b>	<b>2</b>
<b>1.1</b>	<b>Anatomie.....</b>	<b>2</b>
1.1.1	Zahn .....	2
1.1.1.1	Zahnschmelz.....	2
1.1.1.2	Dentin.....	3
1.1.1.3	Pulpa.....	4
1.1.2	Zahnhalteapparat (Parodont).....	5
1.1.2.1	Gingiva.....	5
1.1.2.2	Wurzelzement.....	6
1.1.2.3	Desmodont.....	6
1.1.2.4	Alveolarknochen.....	7
<b>1.2</b>	<b>Terminologie .....</b>	<b>8</b>
1.2.1	Topographie am Zahn.....	8
1.2.2	Zahnidentifizierung.....	8
<b>1.3</b>	<b>Gebiss der Katze .....</b>	<b>10</b>
1.3.1	Zahnformel.....	10
1.3.2	Morphologie und Funktion der Zähne .....	10
<b>2</b>	<b>NATÜRLICHE SCHUTZMECHANISMEN UND NORMALFLORA DER MAULHÖHLE DER KATZE.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1</b>	<b>Natürliche Schutzmechanismen .....</b>	<b>11</b>
<b>2.2</b>	<b>Normalflora.....</b>	<b>13</b>
<b>3</b>	<b>PARODONTALE ERKRANKUNGEN DER KATZE .....</b>	<b>14</b>
<b>3.1</b>	<b>Ätiologie parodontaler Erkrankungen.....</b>	<b>14</b>
3.1.1	Prädisponierende Faktoren.....	14
3.1.1.1	Lokale Faktoren.....	14
3.1.1.2	Systemische Faktoren.....	15

3.1.2	Plaque.....	16
3.1.3	Zahnstein.....	18
<b>3.2</b>	<b>Auswirkung von Plaque und Zahnstein auf die Maulhöhle.....</b>	<b>19</b>
3.2.1	Pathogenese parodontaler Erkrankungen.....	19
3.2.1.1	Flora bei parodontalen Erkrankungen.....	20
3.2.1.2	Mögliche bakterielle Effekte bei parodontalen Erkrankungen.....	21
3.2.1.3	Reaktion des Wirtes.....	22
3.2.2	Klinische Symptome bei parodontalen Erkrankungen.....	25
<b>3.3</b>	<b>Auswirkung parodontaler Erkrankungen auf den Gesamtorganismus .....</b>	<b>27</b>
<b>4</b>	<b>THERAPIE UND PROPHYLAXE PARODONTALER ERKRANKUNGEN .....</b>	<b>29</b>
<b>4.1</b>	<b>Therapiemaßnahmen.....</b>	<b>29</b>
<b>4.2</b>	<b>Prophylaxemaßnahmen.....</b>	<b>31</b>
4.2.1	Bisher angewandte Prophylaxemaßnahmen bei der Katze.....	31
4.2.1.1	Prophylaxemaßnahmen durch den Tierarzt.....	31
4.2.1.2	Prophylaxemaßnahmen durch den Tierbesitzer.....	32
4.2.2	Neue Substanzen in der Prophylaxe.....	34
4.2.2.1	Vitamin C.....	34
4.2.2.1.1	Chemische Struktur und Nomenklatur.....	34
4.2.2.1.2	Eigensynthese und Bedarf.....	35
4.2.2.1.3	Ascorbinsäure im Organismus.....	36
4.2.2.1.4	Funktionen der Ascorbinsäure.....	37
4.2.2.1.5	Ascorbinsäure in der zahnmedizinischen Prophylaxe.....	38
4.2.2.2	Epigallocatechin Gallat (EGCG).....	39
4.2.2.2.1	Chemische Struktur und Ursprung.....	39
4.2.2.2.2	Epigallocatechin Gallat im Organismus.....	40
4.2.2.2.3	Wirkungen von Epigallocatechin Gallat.....	41
4.2.2.2.4	Epigallocatechin Gallat in der zahnmedizinischen Prophylaxe.....	42
4.2.2.3	Lactoferrin (LF).....	42
4.2.2.3.5	Chemie und Biochemie.....	42
4.2.2.3.6	Lactoferrin im Organismus.....	42
4.2.2.3.7	Funktionen von Lactoferrin.....	43
4.2.2.3.8	Lactoferrin in der zahnmedizinischen Prophylaxe.....	43

<b>C MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>45</b>
<b>1 VERSUCHSPLAN .....</b>	<b>45</b>
<b>2 VERSUCHSTIERE.....</b>	<b>45</b>
<b>3 FÜTTERUNGSSTUDIE.....</b>	<b>46</b>
3.1 Beschreibung der Futtermittel hinsichtlich ihrer Rohnährstoffzusammensetzung.....	46
3.2 Beschreibung des Futters hinsichtlich des Gehaltes an Mineral- und Zusatzstoffen.....	48
3.3 Beschreibung der Futtermittel hinsichtlich ihrer Wirkstoffgehalte.....	49
3.4 Futterzuteilung und Fütterungstechnik.....	50
<b>4 VERSUCHSABLAUF .....</b>	<b>52</b>
4.1 Dauer der einzelnen Versuchsphasen .....	52
4.2 Gabe von Versuchs- bzw. Kontrollfutter in den einzelnen Versuchsphasen .....	53
4.3 Untersuchungen und Probenentnahme im Wachzustand.....	53
4.3.1 Allgemeinbefinden.....	53
4.3.2 Blutentnahme .....	53
4.3.2.1 Probengewinnung.....	53
4.3.2.2 Probenaufbereitung und Lagerung .....	54
4.4 Probenentnahme, Untersuchungen und Reinigung der Maulhöhle unter Narkose.....	55
4.4.1 Narkose .....	55
4.4.2 Probenentnahme zur bakteriologischen Untersuchung .....	56
4.4.2.1 Probengewinnung.....	56
4.4.2.2 Probenaufbewahrung.....	57
4.4.3 Bestimmung der Maulhöhlenparameter .....	58
4.4.3.1 Halitosismessung.....	58
4.4.3.2 Gingivitisindex .....	60
4.4.3.3 Sondierungstiefe.....	61
4.4.3.4 Plaqueindex .....	62
4.4.3.5 Zahnsteinindex .....	64
4.4.3.6 Furkationsindex .....	65
4.4.3.7 Mobilitätsindex.....	65
4.4.3.8 Reinigung der Maulhöhle .....	66
4.4.3.8.1 Zahnsteinentfernung .....	66

4.4.3.8.2	Politur .....	67
<b>4.5</b>	<b>Laborbestimmungen.....</b>	<b>68</b>
4.5.1	Blutbild .....	68
4.5.2	Leber-, Nierenwerte und Fruktosamin .....	68
4.5.3	Bestimmung des antioxidativen Status im Blut .....	68
4.5.3.1	Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) im Serum.....	68
4.5.3.1.1	Testprinzip und Reagenzien.....	69
4.5.3.1.2	Methode.....	70
4.5.3.1.3	Berechnung.....	70
4.5.3.2	Vitamin E im Serum.....	71
4.5.3.2.1	Prinzip.....	71
4.5.3.2.2	Reagenzien.....	71
4.5.3.2.3	Probenvorbereitung.....	71
4.5.3.2.4	Methode.....	71
4.5.3.2.5	Auswertung.....	72
4.5.3.3	Vitamin C im Serum.....	72
4.5.3.3.1	Prinzip.....	73
4.5.3.3.2	Reagenzien.....	73
4.5.3.3.3	Probenvorbereitung.....	73
4.5.3.3.4	Methode.....	73
4.5.3.3.5	Auswertung.....	74
4.5.3.4	Aspartat-Amino-Transferase (AST) und Kreatinkinase (CK) im Serum .....	74
4.5.4	Bestimmung der Epigallocatechin Gallat(EGCG)-Konzentration im Plasma.....	74
4.5.5	Bestimmung antibakterieller Aktivität .....	75
4.5.5.1	Nährböden und Anreicherungsmedien .....	75
4.5.5.2	Probenverarbeitung und Inkubation .....	75
4.5.5.2.1	Tupferproben .....	75
4.5.5.2.2	Papierspitzen-Proben .....	76
4.5.5.3	Beurteilung der Kulturen und Anfertigen von Reinkulturen .....	76
4.5.5.4	Bakteriendifferenzierung.....	78
4.5.5.4.1	optische Differenzierung.....	78
4.5.5.4.2	biochemische Differenzierung.....	79
4.5.5.4.3	weitere zur Differenzierung und Bestätigung angewendete Verfahren .....	80
4.5.5.5	In-Vitro Hemm-Versuch .....	81
4.5.5.5.1	Vorbereitung der Nährböden für den Hemmversuch.....	81
4.5.5.5.2	Vitamin C (Natrium Ascorbyl Monophosphat) .....	81
4.5.5.5.3	Lactoferrin und EGCG .....	81
<b>4.6</b>	<b>Rechtliche Bestimmungen.....</b>	<b>82</b>
<b>4.7</b>	<b>Statistische Auswertung .....</b>	<b>82</b>

<b>D</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>83</b>
<b>1</b>	<b>VITAMIN C – VERSUCH .....</b>	<b>83</b>
1.1	Versuchstiere.....	83
1.2	Maulhöhlenparameter.....	83
1.2.1	Halitosis .....	83
1.2.2	Gingivitisindex.....	84
1.2.3	Sondierungstiefe .....	86
1.2.4	Plaqueindex.....	87
1.2.5	Zahnsteinindex .....	89
1.2.6	Furkationsindex.....	90
1.2.7	Mobilitätsindex .....	90
1.3	Laborbestimmungen.....	90
1.3.1	Blutbild .....	90
1.3.2	Leber-, Nieren- und Fruktosaminwerte .....	92
1.3.2	Antioxidativer Status.....	93
1.3.3	Antibakterielle Aktivität .....	94
1.3.3.1	In vivo .....	94
1.3.3.2	In vitro .....	107
<b>2</b>	<b>VERSUCH MIT EPIGALLOCATECHIN GALLAT (EGCG) IN KOMBINATION MIT LACTOFERRIN (LF).....</b>	<b>109</b>
2.1	Versuchstiere.....	109
2.2	Maulhöhlenparameter.....	109
2.2.1	Halitosis .....	109
2.2.2	Gingivitisindex.....	110
2.2.3	Sondierungstiefe .....	112
2.2.4	Plaqueindex.....	113
2.2.5	Zahnsteinindex .....	115
2.2.6	Furkationsindex.....	116
2.2.7	Mobilitätsindex .....	116
2.3	Laborbestimmungen.....	116
2.3.1	Blutbild .....	116
2.3.2	Nieren- und Fruktosaminwerte .....	118
2.3.3	Antioxidativer Status.....	119
2.3.4	Epigallocatechin Gallat (EGCG).....	120



2.3.5	Antibakterielle Aktivität .....	120
2.3.5.1	In vivo .....	120
2.3.5.2	In vitro .....	131
<b>E</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>135</b>
<b>1</b>	<b>AUFBAU UND DURCHFÜHRUNG DER FÜTTERUNGSSTUDIE .....</b>	<b>135</b>
1.1	Studiendesign .....	135
1.2	Versuchsfutter.....	136
<b>2</b>	<b>EINFLUSS VON VITAMIN C UND EGCG IN KOMBINATION MIT LACTOFERRIN AUF DIE MAULHÖHLENPARAMETER – WAHL DER METHODE UND ERGEBNISSE .....</b>	<b>138</b>
2.1	Halitosis .....	138
2.2	Gingivitisindex .....	139
2.3	Sondierungstiefe.....	140
2.4	Plaqueindex .....	141
2.5	Zahnsteinindex.....	143
2.6	Furkations- und Mobilitätsindex.....	143
<b>3</b>	<b>LABORBESTIMMUNGEN .....</b>	<b>144</b>
3.1	Durchführung der Probenentnahmen .....	144
3.2	Blutbild, Leber-, Nierenwerte und Fruktosamin .....	145
3.3	Einfluss von Vitamin C und EGCG in Kombination mit Lactoferrin auf den antioxidativen Status.....	146
3.4	Epigallocatechin Gallat .....	148
3.5	Untersuchungen zur bakteriellen Flora der Maulhöhle der Katze .....	149
3.5.1	In vivo-Versuch .....	149
3.5.1.1	Eignung der verwendeten Materialien zur Bakterienanzüchtung und Differenzierung.....	149
3.5.1.2	Erhebung des Grundstatus – Wahl der Methode und Ergebnisse.....	150
3.5.1.3	Wirkung von Vitamin C auf die Plaqueflora .....	152

3.5.1.4	Wirkung von EGCG in Kombination mit Lactoferrin auf die Plaqueflora.....	154
3.5.1.5	Zusammenfassende Beurteilung der in vivo-Ergebnisse aus den bakteriologischen Untersuchungen .....	156
3.5.2	In vitro-Versuch .....	157
3.5.2.1	Hemmwirkung durch Vitamin C .....	157
3.5.2.2	Hemmwirkung durch EGCG in Kombination mit Lactoferrin.....	157
3.5.2.3	Zusammenfassende Beurteilung der in vitro-Ergebnisse .....	159
<b>F ZUSAMMENFASSUNG .....</b>		<b>160</b>
<b>G SUMMARY .....</b>		<b>162</b>
<b>H ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>		<b>164</b>
<b>I TABELLENVERZEICHNIS.....</b>		<b>167</b>
<b>J LITERATURVERZEICHNIS .....</b>		<b>171</b>
<b>K DANKSAGUNG.....</b>		<b>190</b>
<b>L LEBENS LAUF.....</b>		<b>192</b>

## Abkürzungen

ALT	Alanin-Amino-Transferase
AP	Alkalische Phosphatase
Aqua dest.	Aqua destillata
AST	Aspartat-Amino-Transferase
Baso	basophile Granulozyten
BU	bakteriologische Untersuchung
bzw.	beziehungsweise
C	Caninus
°C	Grad Celsius
CI	Zahnsteinindex
CK	Kreatinkinase
CREA	Kreatinin
EDTA	Ethylendiamintetraesigsäure
EGCG	Epigallocatechin Gallat
Eos	eosinophile Granulozyten
FDI	Federation dentaire internationale
FI	Furkationsindex
Fruc	Fruktosamin
g	Gramm
GI	Gingivitisindex
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
HAST	Harnstoff
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie
I	Incisivus
IE	International Einheit
IL-1 $\beta$	Interleukin 1beta
KFZ	Kapillare Füllungszeit
KG	Körpergewicht
KM	Körpermasse
l	Liter
LD 50	Letaldosis (Dosis, die bei 50 % der Versuchsobjekte den Tod herbeiführt)
LF	Lactoferrin
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität (München)
LPS	Lipopolysaccharide
Lym	Lymphozyten
M	Molar
MCH	Mean Corpuscular Haemoglobin
MCHC	Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration
MCV	Mean Corpuscular Volume
ME	umsetzbare Energie
$\mu$ g	Mikrogramm
MI	Mobilitätsindex
min	Minute
MJ	Megajoule

mg	Milligramm
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar
mmol	Millimol
Mono	Monozyten
Neu	neutrophile Granulozyten
NfE	Stichstofffreie Extraktstoffe
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
oS	organische Substanz
P	Prämolar
PCR	Polymeras Chain Reaktion
PD	Sondierungstiefe
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E <sub>2</sub>
PI	Plaqueindex
Ra	Rohasche
RBC	Rote Blutzellen
Rfa	Rohfaser
Rfe	Rohfett
Rp	Rohprotein
sp.	Spezies (Singular)
spp.	Spezies (Plural)
TAA	Total Antioxidant Activity
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity
TNF-α	Tumor-Nekrose-Faktor alpha
TS	Trockensubstanz
TU	Technische Universität
U	Umdrehung
uS	ursprüngliche Substanz
VSC	Schwefelkomponenten
WBC	weiße Blutzellen

## A Einleitung

Erkrankungen der Zähne und des Zahnhalteapparates kommen nicht nur beim Menschen häufig vor, sondern sind auch die häufigsten diagnostizierten Erkrankungen bei Hund und Katze. So sind rund 60 Prozent aller Hauskatzen im Alter von über 3 Jahren von parodontalen Erkrankungen betroffen (Clarke und Cameron, 1998).

Bakterielle Beläge (Plaque) sind die Hauptursache für die Entwicklung parodontaler Erkrankungen. Die meisten Parodontopathien beginnen mit der Ansammlung von Plaque auf den Zahnoberflächen. Die darin angesiedelten Bakterien bilden Toxine, welche im Laufe der Zeit zu einer Gingivitis und letztendlich auch einer Parodontitis mit Substanzverlusten im Zahnhalteapparat führen können. Die Bakterien als auch deren bakterielle Toxine können in die Blutbahn gelangen und so zu systemischen Erkrankungen führen. Wird die Plaque nicht rechtzeitig von den Zahnoberflächen entfernt, kann sie zu Zahnstein mineralisieren, dessen raue Oberfläche die weitere Anlagerung von Plaque ermöglicht.

Viele Maßnahmen zur Verhinderung der Plaquebildung können vom Tierbesitzer zu Hause angewandt werden. Zu diesen Maßnahmen gehört unter anderem auch die Plaquekontrolle durch eine angemessene Fütterung. In den letzten Jahrzehnten hat sich die Nahrungszusammensetzung durch eine Vielzahl kommerziell erhältlicher Alleinfuttermittel für Katzen verändert. Verschiedene Studien zeigen, dass durch Trockenfutter und vor allem durch bestimmte Diätfutter eine Reduzierung der Plaquebildung im Vergleich zu Feuchtfutter erreicht werden kann (Watson, 1994). Dieser Effekt basiert auf der mechanischen Reinigungswirkung dieser Futtermittel, ist aber nicht so wirksam wie beispielsweise tägliches Zähneputzen oder das Aufbringen antibakteriell wirksamer Substanzen auf die Zahnoberflächen.

In der Humanmedizin werden Substanzen wie Vitamin C, Epigallocatechin Gallat und Lactoferrin bereits auf Grund ihrer antibakteriellen und immunmodulierenden Wirkung zur Erhaltung der Zahngesundheit eingesetzt. In dieser Studie sollte erstmals der Einfluss dieser Substanzen in einer Fütterungsstudie auf die Zahngesundheit der Katze untersucht werden. Dazu sollte deren Wirkung auf die bakterielle Flora der Maulhöhle, den Atemgeruch, das Parodont und die Plaque- und Zahnsteinbildung beurteilt werden. Zusätzlich sollte der Einfluss dieser Substanzen auf den antioxidativen Status der Tiere untersucht werden.

## **B Literaturübersicht**

### **1 Zahn- und Zahnhalteapparat (Parodont)**

#### **1.1 Anatomie**

Nach Fahrenkrug (1986) sind abgesehen von der durch die Ernährungsweise abweichenden Zahnform die Strukturen des Zahnes und des Zahnhalteapparates der Haussäugetiere denen des Menschen sehr ähnlich. Im Folgenden werden diese Strukturen erläutert und in Abbildung 1 graphisch dargestellt.

##### **1.1.1 Zahn**

Am Zahn wird der sichtbare Teil, die Krone von der Zahnwurzel unterschieden, die den Zahn im Kiefer verankert. Die Grenze zwischen Krone und Wurzel wird als Zahnhals bezeichnet. Dieser befindet sich direkt unter einer für Fleischfresser typischen Schmelzsausbuchtung am Gingivarand (Fahrenkrug, 1986; Orsini und Hennet, 1992; Schummer und Habermehl, 1987). Der Zahn ist aus den Zahnhartsubstanzen und der Pulpa aufgebaut. Zu den Hartsubstanzen gehören der Zahnschmelz, das Dentin und der Wurzelzement. Letztgenannter wird häufig als Teil des Parodontiums klassifiziert (Hennet, 1995a) und deshalb in Kapitel B 1.1.2 besprochen.

##### **1.1.1.1 Zahnschmelz**

Die Zahnschmelz bedeckt die Krone. Er ist eine hochgradig abrasionsfeste und harte Körpersubstanz, die zu ca. 97 % aus Apatitkristallen besteht (Buddecke, 1981; Fahrenkrug, 1986). Apatite lassen sich durch die allgemeine Summenformel  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$  beschreiben, wobei X entweder ein Fluoridion (Fluorapatit) oder ein Hydroxlyon (Hydroxylapatit), aber auch ein anderes Anion sein kann. Der wichtigste und quantitativ bedeutendste Bestandteil der Hartsubstanz von Knochen und Zähnen ist Hydroxylapatit, das im Schmelz in Form von Prismen angeordnet ist (Buddecke, 1981). Schmelz ist die härteste und am stärksten mineralisierte Substanz des Körpers und kann im Gegensatz zu Zement und Dentin nicht nachgebildet werden. Die einzige natürliche Reparatur, die in der Schmelzschicht nach Schädigung auftreten

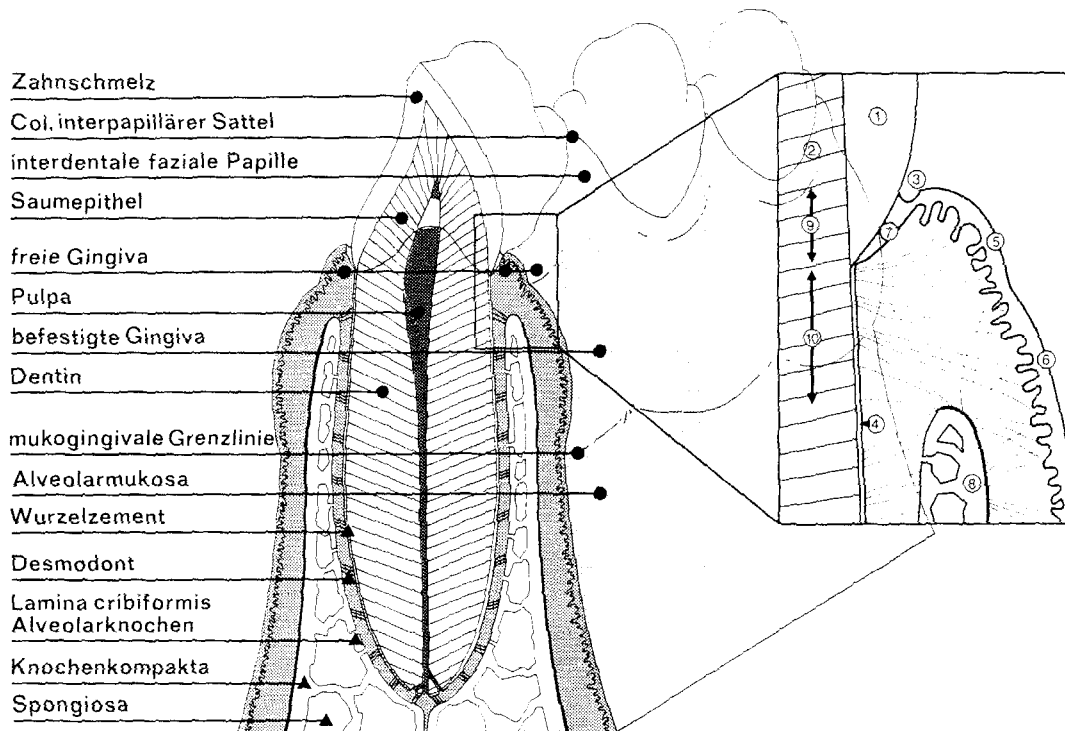
kann, ist eine oberflächliche Remineralisation (Bojrab und Tholen, 1990; Hennet, 1995a). Schmelz ist durch seinen Aufbau wenig elastisch, gering zugfest und demzufolge auch sehr spröde und brüchig. In begrenztem Umfang ist er für Flüssigkeiten durchlässig (Hees und Sinowatz, 1992).

Die Schichtdicke des Zahnschmelzes beträgt bei der Katze 0,2 mm. Der Zahnschmelz der Katze ist damit nicht nur dünner sondern auch weicher als der Schmelz des Hundes oder des Menschen (Hayashi und Hideo, 1989; Hennet, 1995a; Hennet, 1995b). Eine weitere Besonderheit im Vergleich zum Mensch ist eine Ausbuchtung an der Basis der Zahnkrone, die die Schmelzschicht bei Fleischfressern bildet. Diese Ausbuchtung ist ein wichtiger Teil der natürlichen Schutzmechanismen im Maul (siehe Kapitel B 2.1) und sollte nie iatrogen entfernt werden (Emily und Penman, 1990).

### **1.1.1.2 Dentin**

Das Dentin ist eine knochenähnliche Substanz mit einem anorganischen Anteil von ca. 70 Gewichtsprozent, der vorwiegend aus Apatitkristallen besteht. Die restlichen 30 Gewichtsprozent bestehen aus organischen Substanzen, von denen Kollagen das Hauptmatrixprotein darstellt (Buddecke, 1981). Nach Bojrab und Tholen (1990) ist es härter als Knochen, jedoch weicher als Schmelz.

Dentin umgibt die gesamte Pulpa, macht den größten Anteil der Zahnschicht aus und vermittelt dabei dem einzelnen Zahn seine spezifische Gestalt (Hees und Sinowatz, 1992). Es ist bei Säugetieren charakterisiert durch radiär ausstrahlende Dentinkanälchen, die 20 bis 30 Volumenprozent des gesamten Dentins einnehmen (Hennet, 1995a). Die Anzahl der Kanälchen mit einem Durchmesser von 1 bis 4  $\mu\text{m}$  beträgt bei der Katze 20.000 bis 40.000 pro  $\text{mm}^2$  (Ahlberg et al., 1975). Die Kanälchen durchqueren das Dentin von der Pulpa bis zur Dentin-Schmelz Verbindung in der Krone bzw. bis zur Dentin-Zement Verbindung in der Wurzel (Hennet, 1995a). In den Kanälchen befinden sich zytoplasmatische Fortsätze der Odontoblasten (siehe Kapitel B 1.1.1.3) (Holland, 1975), sensorische Nervenfasern und Gewebsflüssigkeit. Bei einer Dentinwunde kommt es daher zu einem Kontakt zwischen Pulpa und Mundhöhle mit Weiterleitung von Reizen über die Dentinkanälchen (Nolte und Eickhoff, 2003).



Zahnschmelz (1), Dentin (2), Sulcus gingivae (3), Wurzelzement (4), freie Gingiva (5), befestigte Gingiva (6), Saumepithel (7), Alveolarknochen (8), bindegewebige Anheftung (9), epitheliale Anheftung (10)

**Abbildung 1: Aufbau des Zahnes und des Zahnhalteapparates (Bienick und Bienick, 1993)**

### 1.1.1.3 Pulpa

Die Pulpa ist ein gefäß- und nervenreiches Bindegewebe. In die aus Proteinen, Glykoproteinen und Mukopolysacchariden bestehende Grundsubstanz sind in frühem Lebensalter viele orstsständige und freie Zellen eingelagert. Im Laufe der Zeit nimmt die Pulpa jedoch einen mehr und mehr fibrillären Charakter an (Nolte und Eickhoff, 2003). Die sensorische Innervation aller Zähne erfolgt über maxilläre bzw. mandibuläre Anteile des fünften Gehirnnerv (N. trigeminus) (Seiferle und Böhme, 1992).

Die aktiven und funktionalen Zellen der Pulpa sind die Odontoblasten. Die an der äußeren Grenze der Pulpa liegende Odontoblastenschicht ist für die lebenslang mögliche Dentinproduktion verantwortlich, durch die es zu einer allmählichen Verkleinerung der zu Anfang sehr großen Pulpahöhle kommt (Grant und Bernick, 1971; Silva, 1972). Die Odontoblasten spielen eine regenerative Rolle beim Schutz der Pulpa. Sie können die Pulpa vor schmerzvollen Rei-



zen abschirmen, indem sie bei Defekten sekundäres Dentin produzieren. Dieses Dentin enthält keine Känälehen. (Bojrab und Tholen, 1990).

### **1.1.2 Zahnhalteapparat (Parodont)**

Der Zahnhalteapparat ist eine Einrichtung, die den Zahn mit dem Knochen elastisch federnd verbindet. Anatomisch handelt es sich um eine Gomphosis, d. h. um eine gelenkige Verbindung mit den Kiefern (Budras, 1989; Schumacher, 1990). Kenntnisse der normalen Morphologie und Strukturbiologie der parodontalen Gewebe sind Voraussetzung für das Verständnis pathologischer Veränderungen. Sie verdeutlichen aber auch die Ziele der Kausaltherapie (Rateitschak, 1989).

An der Verankerung der Zähne sind folgende Strukturen beteiligt, die in ihrer Gesamtheit als Parodont bezeichnet werden: Gingiva, Wurzelzement, Desmodont und Alveolarknochen (Nolte und Eickhoff, 2003).

#### **1.1.2.1 Gingiva**

Die Abschnitte der Maulhöhlenschleimhaut, deren Submukosa mit dem Periost der Alveolarfortsätze der Kiefer eng verwachsen ist, die die Zähne an der Grenze zwischen Wurzelteil und Krone fest umschließen und Fasern auch mit dem Alveolarperiost austauschen, werden als Zahnfleisch, Gingiva, bezeichnet (Schummer und Habermehl, 1987).

Die gesunde Gingiva ist rosa und bei der Katze unterschiedlich stark pigmentiert (Dummet und Barends, 1970). Sie ist ein Teil der Maulschleimhaut und gleichzeitig der peripherste Teil des Parodonts. Ihre Konsistenz ist derb, fest und unverschieblich. Man unterscheidet die marginale freie von der befestigten (attached) Gingiva (Bojrab und Tholen, 1990; Emily und Penman, 1990; Fahrenkrug, 1986; Hennes, 1995a; Hennes, 1995b; Rateitschak, 1989; Schumacher, 1990).

Die Gingiva bedeckt die koronalen Abschnitte des Alveolarfortsatzes, umschließt die Zähne, bildet mit Hilfe eines epithelialen Ringes (Saume epithel) den Epithelansatz und endet am Zahnhals. Die koronalsten Zellen des Saume epithels bilden den Boden des gingivalen Sulcus. Dieser ist auf der einen Seite durch Zahnschmelz, auf der anderen Seite durch orales Sulcusepithel begrenzt (Lange und Schroeder, 1971). Bei der gesunden Gingiva haftet das Saume epithel innig an der Schmelzoberfläche des Zahnes. Zwischen dem Zahn und der marginalen Umschlagstelle der Gingiva besteht nur ein flacher Sulcus (Bieniek und Bieniek, 1993). Die-

ser umgibt den ganzen Zahn und hat bei der Katze nach Hennet (1995<sup>a</sup>) physiologisch eine Tiefe von 0 bis 1 mm. Dobrescu (1993) dagegen beschreibt eine Sulcustiefe von maximal 0,5 mm als physiologisch.

Der Großteil der Gingiva besteht aus kollagenen Fasern. Diese Fasern nehmen im Bereich der befestigten Gingiva unterschiedlichste Verlaufsrichtungen. Sie verleihen der Gingiva Formfestigkeit, fixieren sie unterhalb des Saumepithels auf der Zahnoberfläche, sichern sie gegen abscherende Kräfte und stabilisieren die einzelnen Zähne zu einer Zahnreihe. Zu den gingivalen Fasern können im weiteren Sinne auch die periostogingivalen Bündel gezählt werden. Sie befestigen die „angewachsene“ Gingiva auf dem Alveolarfortsatz (Rateitschak, 1989).

### **1.1.2.2 Wurzelzement**

Der Wurzelzement ist eine knochenähnliche Substanz, die das Dentin im Wurzelbereich bedeckt (Emily und Penman, 1990; Hees und Sinowatz, 1992). Er besteht zu 61 Gewichtsprozent aus Apatitkristallen und ist damit weniger als Schmelz und Dentin jedoch mehr als Knochen kalzifiziert (Buddecke, 1981). Aufbau und Resorption finden wie im Knochen kontinuierlich statt. Zement ist damit für reparative und auch resorptive Prozesse verantwortlich (Orsini und Hennet, 1992). Es ähnelt dem Faserknochen, besitzt jedoch zusätzlich eingelagerte kollagene Fibrillen, die mineralisiert sein können und sich zu den Sharpey'schen Fasern zusammenbündeln (Fahrenkrug, 1986).

Verschieden strukturierte Wurzelzemente bedecken die gesamte Zahnwurzel. Im Bereich der Schmelz-Zement-Grenze befindet sich azellulär-afibrillärer Zement. In Richtung auf die Wurzelspitze wird er faserhaltig. Nur in der innersten Schicht der Wurzelspitze ist der Zement ein zellreiches und faserreiches Gewebe (Pilz et al., 1969; Schroeder, 1986).

Nach Forsberg (1969) ist bei der Katze azellulärer Zement besonders dick. Der Zement in den Bereichen der Wurzelgabelung (Furkation) bei mehrwurzeligen Zähnen ist dagegen sehr dünn ausgebildet.

### **1.1.2.3 Desmodont**

Das Desmodont (Wurzelhaut oder auch periodontales Ligament) liegt zwischen der Wurzeloberfläche und dem Alveolarknochen. Es besteht aus Bindegewebsfasern, Zellen, Gefäßen, Nerven und Grundsubstanz (Rateitschak, 1989).

Neben der wichtigsten Funktion, nämlich der mechanischen, hat das Desmodont eine formative und nutritive Aufgabe. Grundlage der mechanischen Funktion sind die Faserbündel. Bau-

steine der Faserbündel sind 40 – 70 nm dicke kollagene Fibrille. Mehrere solcher parallel angeordneter Fibrillen bilden eine kollagene Faser. Zahlreiche Fasern vereinigen sich dann zu kollagenen Faserbündeln (Sharpey'sche Fasern). Diese inserieren einerseits im Alveolarknochen, andererseits im Wurzelzement (Feneis, 1952). Elektronenmikroskopisch bestehen die Sharpey'schen Fasern aus den gleichen quergestreiften kollagenen Fibrillen, wie sie der Wurzelzement enthält. Der Verlauf der Fasern entspricht der funktionellen Belastung des Zahnes. Sie sind so angeordnet, dass sie dem Zahn während der Kauaktivität genügend Halt bei elastischer Verankerung verleihen (Pilz et al., 1969). Nach Budras (1989) verlaufen die Fasern überwiegend von der Alveolarwand steil absteigend in die Tiefe gegen die Spitze der Zahnwurzel, was die Umformung des Kaudrucks in eine Zugspannung ermöglicht. Bei Annäherung an den Zahnhals wird der Faserverlauf allmählich horizontal und schließlich bei Umkehr der Verlaufrichtung steil ansteigend.

Die formative Funktion des Desmodont besteht in der Bildung von Fibroblasten, Fibrillen neuem Zement und neuen Knochen an der Alveoleninnenwand. Die sensorische Funktion wird von den Nerven und die nutritive von den Blutgefäßen der Wurzelhaut ausgeübt (Pilz et al., 1969). Die Nervenfasern kommen von der Wurzelspitzenregion. Diese Fasern übermitteln Berührungs-, Druck- und Schmerzreize (Lewinsky und Stewart, 1937; Loescher und Holland, 1991).

#### **1.1.2.4 Alveolarknochen**

Der Alveolarknochen bildet die Fächer, in denen die Wurzeln der Zähne verankert sind. Normaler Knochen besteht aus drei Schichten: Periost, Kompakta und Spongiosa. Am Alveolarknochen lässt sich noch eine weitere Schicht abgrenzen: die Lamina cribriformis (Hennet, 1995a). Diese die Alveolarwand bildende Schicht ist von zahlreichen kleinen Löchern (Volkmann-Kanäle) durchsetzt, durch welche Blut-, Lymphgefäße und Nervenfasern in das Desmodont ein- und austreten (Schummer und Habermehl, 1987).

Die Alveolarfortsätze des Ober- und Unterkiefers sind zahnabhängige Strukturen. Sie entwickeln sich mit der Bildung und während des Durchbruchs der Zähne und atrophieren nach Verlust derselben weitgehend (Rateitschak, 1989).

## 1.2 Terminologie

In letzter Zeit hat auch in der Veterinärmedizin eine einheitliche Nomenklatur zur Beschreibung des Gebiss des Zahnpatienten an Bedeutung gewonnen (Floyd, 1991). Zur Orientierung im Gebiss sind eine eindeutige topografische Nomenklatur und eine exakte Zahnidentifizierung von Bedeutung.

### 1.2.1 Topographie am Zahn

Der Bezugspunkt für anatomische Bezeichnungen ist der Zahn. Die Bezeichnungen buccal bzw. labial benennen die Flächen des Zahnes, die zu den Backen bzw. zu den Lippen zeigen. Nach dem gleichen Schema werden die Flächen, die zur Zunge im Unterkiefer bzw. zum Gaumen im Oberkiefer zeigen als lingual bzw. palatal bezeichnet (Bojrab und Tholen, 1990; Holmstrom, 2000). Die Kaufläche der Zähne wird als okklusale Fläche bezeichnet. Die mesiale Fläche der Prämolaren und Molaren ist die nach rostral zeigende Fläche. Die distale Fläche zeigt nach kaudal (Bojrab und Tholen, 1990). Abbildung 2 zeigt die Bezeichnungen zur Orientierung am Gebiss.

### 1.2.2 Zahnidentifizierung

Zur Zahnidentifizierung wurde an Stelle der anatomischen Bezeichnungen mit Großbuchstaben und der Bezeichnung links bzw. rechts die in der Humanmedizin durchgehende Bezifferung der Zähne modifiziert auch in der Veterinärmedizin eingeführt (Eisenmenger und Zetner, 1982). In der Humanmedizin werden allerdings die verschiedensten Zahnschemata benutzt (Altieri, 1995; Belok, 2003; Elderton, 1989; Peck und Peck, 1993; Rothwell, 1989; Röttscher, 1994; Yurdukoru, 1989). Beklagenswert ist dabei die immer noch internationale Uneinheitlichkeit (Belok, 2003; Röttscher, 1994).

Die einheitliche Klassifizierung der Zähne ist auch in der Tiermedizin von großer Bedeutung. Hier erwies sich das Drei-Ziffern System nach Triadan als vorteilhaft (Van Foreest, 1995). Triadan führte dieses System 1972 als Zahnschema für Tiere ein (Fahrenkrug, 1986; Floyd, 1991). Eisenmenger und Zetner (1982) nennen für den tierärztlichen Gebrauch zusätzlich das System nach Haderup und das Winkelsystem. Ziehen aber wie auch Holmstrom (2000) zur Vermeidung von Mißverständnissen die von Triadan vorgeschlagene dreistellige oder die anatomische Nomenklatur vor. Beide Systeme sind in Abbildung 3 dargestellt.

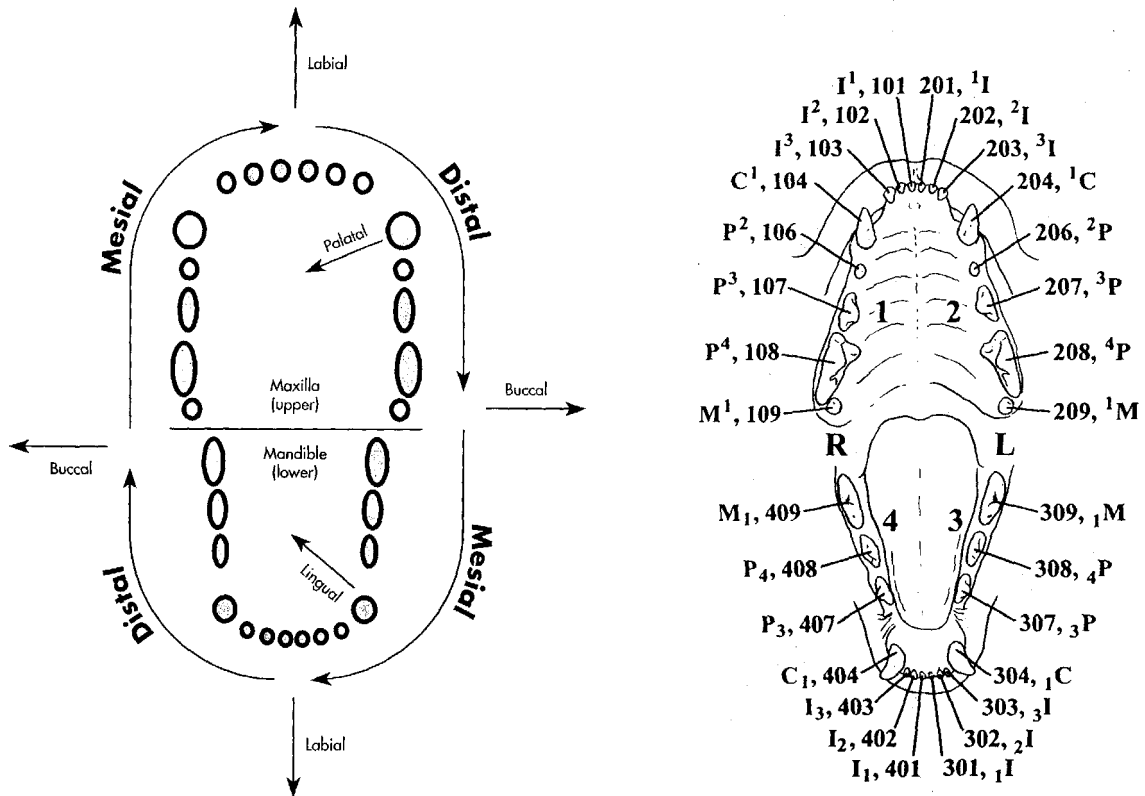


FIGURE 1-12 Positional terminology: the oral road map.

Abbildung 2: Topographie in der Maulhöhle (Holmstrom, 2000)

Abbildung 3: Zahnidentifizierung nach dem anatomischen System (außen) und dem Triadan System (innen) (Kesel, 2000)

In der anatomischen Nomenklatur werden die Incisivi von einer gedachten Mittellinie in der Medianen von mesial beginnend nacheinander als I1, I2, 23 bezeichnet. Die Canini als C, die Prämolaren als P2, P3, P4 und die Molaren als M1 und M2. Zusätzlich wird die Lagebezeichnung rechts oder links sowie Ober- und Unterkiefer hinzugefügt (Eisenmenger und Zetner, 1982; Fahrenkrug, 1986; Holmstrom, 2000; Schummer und Habermehl, 1987). Alternativ kann auch, um einen Zahn in einer Hälfte der Maulhöhle zu bezeichnen, die Ziffer auf die entsprechende Seite des Buchstaben geschrieben werden. Je nach Ober- oder Unterkiefer wird die Ziffer hoch- oder tiefgestellt. Zum Beispiel ist der erste Molar im rechten Oberkiefer M<sup>1</sup> und der erste Molar im linken Unterkiefer <sub>1</sub>M (Holmstrom, 2000).

Beim Zahnschema nach Triadan bezeichnet die erste Ziffer den Quadranten, in dem sich der Zahn befindet. Die Nummerierung der Quadranten wird aus Patientensicht rechts oben begonnen. Anschließend wird aus Untersichersicht wie im Uhrzeigersinn durchnummeriert. Die folgende zweiziffrige Zahl definiert den Zahn, indem von der Medianlinie beginnend nach

distal durchnummeriert wird (Eisenmenger und Zetner, 1982; Fahrenkrug, 1986; Holmstrom, 2000; Kesel, 2000). Der erste obere rechte Schneidezahn trägt beim Tier die Ziffer – 101 –, der letzte untere rechte Molar der Katze – 409-. Damit hat sich das Triadan System gut bewährt, weil es – ist man erst damit vertraut – schnelle Orientierung gewährleistet (Fahrenkrug, 1986).

## 1.3 Gebiss der Katze

### 1.3.1 Zahnformel

Das Fleischfressergebiss der Katze ist wie beim Hund vom sekodonten Typ (secarare = lat. schneiden), jedoch weiter reduziert. Das Dauergebiss der ausgewachsenen Katze besteht aus 30 Zähnen und kann mit folgender Zahnformel wiedergegeben werden:

$$\frac{3I \ 1C \ 3P \ 1M}{3I \ 1C \ 2P \ 1M} = 30 \text{ Zähne.}$$

Wobei die Buchstaben nach der anatomischen Bezeichnung gewählt wurden und die Ziffern die Anzahl der Zähne angeben. Über dem Strich stehen die Zähne des Oberkiefers, darunter die des Unterkiefers (Fahrenkrug, 1986; Schummer und Habermehl, 1987).

### 1.3.2 Morphologie und Funktion der Zähne

Das Gebiss der Katze besteht aus schmelzhöckerigen Wurzelzähnen mit abgeschlossenem Wachstum, man spricht auch vom brachyodonten Zahntyp. Der untere Zahnbogen ist enger als der obere, es besteht Anisognathie. Infolgedessen gleiten beim Kieferschluss die Zähne des oberen Zahnbogens mit ihrer lingualen Fläche an der labialen bzw. buccalen Fläche der entsprechenden Zähne des unteren Zahnbogens vorbei. Diese Einrichtung macht das Gebiss der Katze zu einem sekodonten und lässt in Übereinstimmung mit dem Bau des Kiefergelenks nur Vertikalbewegungen zu (Schummer und Habermehl, 1987).

Die Schneidezähne sind sehr klein und dünn und im nicht abgenutzten Zustand an ihrer Krone fein gezähnt. Sie sind sehr klein und nehmen von mesial nach distal an Stärke zu. Die dolchartigen Canini sind die kräftigsten Zähne des Katzegebisses. Die Canini der Unterkie-

fer greifen jederseits zwischen I3 und C des Oberkiefers hindurch (Schummer und Habermehl, 1987). Sie sind im Oberkiefer kräftiger ausgebildet als im Unterkiefer (Fahrenkrug, 1986).

Von den Prämolaren sind im Oberkiefer nur drei angelegt. Der vordere wird als P2 bezeichnet, ist klein spitzhöckrig, einwurzelig und kann ebenfalls fehlen (Verstraete und Terpak, 1997). Der P4 ist dreiwurzelig, der stärkste Zahn im Oberkiefer und bildet den Reißzahn.

Im Unterkiefer sind nur der P3 und der P4 angelegt. Sie sind beide zweiwurzelig. Der kräftige, ebenfalls zweiwurzelige M1 funktioniert als unterer Reißzahn (Schumer und Habermehl, 1987; Fahrenkrug, 1986).

Anatomische Abweichungen treten teilweise auf, sind aber meist nicht von klinischer Bedeutung. Gelegentlich kann ein überzähliger oder missgebildeter Zahn zu Reizungen der Gingiva führen und ein prädisponierender Faktor in der Entstehung parodontaler Erkrankungen darstellen (Verstraete und Terpak, 1997).

## **2 Natürliche Schutzmechanismen und Normalflora der Maulhöhle der Katze**

### **2.1 Natürliche Schutzmechanismen**

Für den Schutz der Zähne und des Zahnhalteapparat, sowie um bakterielles Wachstum und Infektionen zu vermeiden, sind verschiedene Mechanismen in der Maulhöhle verantwortlich (Emily und Penman, 1990; Hennes, 1995a; Hennes, 1995b).

Wichtig als mechanische Barriere sind die Schmelzausbuchtung, das Maulhöhlenepithel und der Speichelfluß. Die Schmelzausbuchtung oberhalb des Zahnhalses hält alles, was gekaut wird, vom freien Gingivarand fern. Dadurch wird die empfindliche epitheliale Befestigung der Gingiva vor mechanischen Schäden geschützt (Emily und Penman, 1990). Ein intaktes Maulhöhlenepithel ist der wichtigste Mechanismus gegen die Invasion von Bakterien ins Gewebe. Die Besiedlung der Maulschleimhaut mit Bakterien wird vor allem durch die Desquamation der Epithelzellen und das keratinisierte Gingivaepithel verhindert. Auch der Speichelfluß

kann Bakterien abwaschen. Damit können nur Bakterien in der Maulhöhle verbleiben, die die Möglichkeit zur Adhäsion an den oralen Oberflächen besitzen.

Die Gingiva ist stark vaskularisiert und kann damit schnell auf bakterielle Infektionen reagieren. Im gingivalen Sulcus ist das Einwandern von Leukozyten, Immunglobulinen und die Exsudation von Flüssigkeit auch in Abwesenheit von Bakterien normal. Bei Plaqueakkumulation sind diese Vorgänge erhöht (Hennet, 1995a). Die dabei ausgeschütteten Mediatoren sind Teil einer entzündlichen Reaktion, die vom Wirtsorganismus zur Abwehr von parodontopathogenen Bakterien und ihrer Toxine ausgelöst wird. Es wird zwischen unspezifischer und spezifischer Abwehr unterschieden (Hellwig, 1999; Pedersen, 1992). Speichel und die Sulcusflüssigkeit enthalten viele antibakterielle Substanzen, die zum unspezifischen Abwehrsystem gezählt werden. Lysozyme, die sich in hoher Konzentration im Speichel finden, hydrolysieren Mucopeptide der Bakterienzellwand und sind damit bakteriozid. Lactoferrin, das sich in Plasma und Speichel befindet, bindet Eisen, das für das Wachstum vieler Mikroorganismen nötig ist, und wirkt dadurch bakteriozid. Peroxidase aus dem Speichel und Myeloperoxidase aus den Leukozyten bauen Wasserstoffperoxid ab, indem sie die Oxidation von Thiocyanaten zu Hypothiocyanaten katalysieren.  $H_2O_2$  wird häufig von Bakterien produziert und kann im Wirt mit toxischer Wirkung akkumulieren. Hypothiocyanat greift in den Bakterienstoffwechsel ein und führt zum Zelltod (Hennet, 1995a; Tenovuo, 1998).

Viele der Substanzen, die von den Plaquemikroorganismen produziert werden, haben antigene Eigenschaften. Sie induzieren zell-vermittelte und Antikörper-vermittelte Immunreaktionen. Die systemische und die lokale Antikörpersynthese kann aktiviert werden. Die Produktion von Antikörpern durch Lymphozyten scheint effektiver zu sein, als die systemische Immunreaktion (Gorrel, 1998). Sowohl die zelluläre Antwort (Granulozyten, antigenpräsentierende Zellen wie z. B. Makrophagen, T4-Helferzellen, T8-Suppressorzellen, zytotoxische Zellen und Killerzellen) als auch die humorale Antwort (B-Zellen, Plasmazellen, Antikörper) verhindern ein Überhandnehmen der Bakterien. Sekretorisch ausgeschüttetes IgA verhindert z.B. die bakterielle Anheftung an orale Oberflächen. Es befindet sich im Speichel und in der Mundschleimhaut (Hellwig, 1999; Tenovuo, 1998). In der Sulcusflüssigkeit befinden sich verschiedenste Immunglobuline gegen spezifische Plaquebakterien. Ihre Konzentration kann in der Sulcusflüssigkeit höher sein, als im Serum (Taichman und Lindhe, 1992).



## 2.2 Normalflora

Mikroorganismen sind normale Bewohner der Maulhöhle. Sie befinden sich im Speichel, auf der Zunge, der Maulschleimhaut und der Zahnoberfläche. Ein dynamisches Gleichgewicht zwischen der Mikroflora und dem Wirtsorganismus hat im allgemeinen einen Zustand klinisch-parodontaler Gesundheit zur Folge (Listgarten, 1988; Pedersen, 1992).

Die normale Mikroflora der Katze besteht zum Großteil aus Bakterien, neben diesen befinden sich aber auch Sproß-, Hefe- und Schimmelpilze in der Normalflora (Bieniek und Bieniek, 1993).

Bakterien werden meist nach ihrem Wachstum in Anwesenheit von Sauerstoff klassifiziert. Aerobe Bakterien können nur mit Sauerstoff wachsen, anaerobe dagegen wachsen nur in Abwesenheit von Sauerstoff. Als fakultativ anaerob werden diejenigen Bakterien bezeichnet, die sowohl mit als auch ohne Sauerstoff wachsen können (Nicolet, 1985).

Nach Nolte und Eickhoff (2003) besteht die Mikroflora der gesunden Gingiva der Katze vorwiegend aus *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. und *Actinomyces* spp. . Auch andere Autoren bestätigen, dass die gesunde gingivale Flora der Katze vorwiegend aus grampositiven aeroben Bakterien besteht (Mallonee et al., 1988; Mihaljevic und Klein, 1998). Mihaljevic und Klein (1998) isolierten am häufigsten *Streptococcus suis*. In der Begleitflora ließen sich *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp., Staphylokokken und *Pasteurella multocida* isolieren. Love et al. wiesen 1990 neben *Actinomyces* spp. auch *Pasteurella multocida*, *Propionibacterium* sp., *Bacteroides* sp., *Fusobacterium* sp., *Clostridium villosum*, *Wolinella* sp. und *Peptostreptococcus anaerobius* auf dem gesunden Gingivarand bei Katzen nach. Diese Studien zeigen, dass neben den überwiegend aeroben Keimen auch anaerobe Keime die Mikroflora der gesunden Maulhöhle der Katze mitbestimmen.

Beim Vergleich der Ergebnisse verschiedener Autoren zur mikrobiellen Flora der Maulhöhle, fallen zahlreiche Diskrepanzen in der Nachweishäufigkeit bestimmter Keime auf. Eine Erklärung für diese Unterschiede stellt der unterschiedliche Untersuchungsort dar. Die Flora der Maulhöhle ist nicht einheitlich, es können starke Unterschiede an verschiedenen Lokalisationen festgestellt werden (Isogai et al., 1989; Syed et al., 1980). Ein weiterer Grund für die verschiedenen Ergebnisse liegt in den häufig unterschiedlichen Kultivierungstechniken (Mihaljevic und Klein, 1998).

### **3 Parodontale Erkrankungen der Katze**

Die Gesundheit des Parodonts hängt mit davon ab, wie gut die Schutzmechanismen (siehe Kapitel B 2.1) des Wirtes gegen Mikroorganismen und deren Toxine, Enzyme, Stoffwechselendprodukte und antigene Faktoren (siehe Kapitel B 3.2.1.2) ausgebildet sind. So lange der Wirt die Mikroorganismen und deren schädigende Faktoren neutralisieren kann, ist das Parodont gesund (Bahn, 2000). Zu den parodontalen Erkrankungen zählen alle Entzündungen und Infektionen des Zahnhalteapparates. Parodontale Erkrankungen von frühen bis zu fortgeschrittenen Stadien stellen ein so häufiges Problem bei der Katze dar, dass mehr als 80 Prozent in einem Alter über 2 Jahren davon betroffen sind (Shipp und Fahrenkrug, 1992).

Im folgenden wird auf die Ätiologie, Pathogenese und klinische Symptome parodontaler Erkrankungen, sowie auf den Einfluss parodontaler Erkrankungen auf den Gesamtorganismus eingegangen.

#### **3.1 Ätiologie parodontaler Erkrankungen**

Obwohl parodontale Erkrankungen bei der Katze zu den häufigsten Erkrankungen zählen, existieren bis heute nur wenige Studien und auch die Ätiologie ist noch nicht vollkommen geklärt (Hennet, 1992). Gesichert ist, dass zur Entstehung parodontaler Erkrankungen prädisponierende Faktoren, Störungen der Mikroflora in der Maulhöhle, Plaque und Zahnstein beitragen (Eisner, 1989; Frost und Williams, 1986; Holmstrom, 2000).

##### **3.1.1 Prädisponierende Faktoren**

Einige lokale und systemische Faktoren haben Einfluss auf die Anfälligkeit (Prädisposition) für parodontale Erkrankungen (Bahn, 2000).

###### **3.1.1.1 Lokale Faktoren**

Die häufigste prädisponierende Ursache für parodontale Erkrankungen ist neben fehlender Maulhygiene eine falsche Ernährung. Unter natürlichen Bedingungen reinigen sich Tiere Zähne und Zahnfleisch beim Fangen und Reißen ihrer Beute, so dass diese Tiere weniger pa-

rodontale Erkrankungen entwickeln. Allerdings kann auch ein den natürlichen Umständen entsprechendes Futter die Entstehung parodontaler Erkrankungen nicht ganz verhindern (Shipp und Fahrenkrug, 1992; Watson, 1994).

Haustiere bekommen meist klebriges Fertigfutter ohne Zahnreinigungseffekt. Dadurch wird die Ansiedlung von Bakterien und damit die Entstehung von Plaque und Zahnstein begünstigt (Lonsdale, 1995; Shipp und Fahrenkrug, 1992). Allerdings kann dies nicht als alleinige Ursache einer erhöhten Prävalenz für parodontale Erkrankungen angesehen werden. (Clarke und Cameron, 1998).

Auch durch lokale Traumata des parodontalen Gewebes können die natürlichen Schutzmechanismen der Maulhöhle geschwächt und die Entstehung parodontaler Erkrankungen begünstigt werden. Hierzu gehören z. B. mechanische Verletzungen, exogene Reize oder Zahnfehlstellungen. Speziell Zahnfehlstellungen können bevorzugte Stellen zur Plaqueakkumulation darstellen (Frost und Williams, 1986; Rateitschak, 1989).

Bei Kieferfehlstellungen und vor allem bei brachycephalen Rassen kommt es häufig zur Maulatmung. Dies führt zu einer trockenen Maulhöhle mit ausgetrockneten Schleimhäuten, wodurch der Speichel seine protektive Funktion nicht entfalten kann (Emily und Penman, 1990; Rateitschak, 1989).

Auch orale Tumoren und Gingivahyperplasie können lokal das Umfeld von Zahn und Gingiva verändern und parodontale Erkrankungen begünstigen (Klein, 2000).

### **3.1.1.2 Systemische Faktoren**

Systemische Faktoren modifizieren die Entstehung und den Verlauf parodontaler Erkrankungen durch ihren Einfluss auf die normalen Abwehr- und Entzündungsmechanismen (Kinane und Marshall, 2001).

Bei der Katze können viele Infektionskrankheiten zur einer Störung des Gleichgewichts in der Maulhöhle beitragen. Caliciviren lösen unter anderem eine Gingivitis aus. Es existieren drei verschiedene Arten von Retroviren (FeLV, FeSFV, FIV), die chronisch in die Maulhöhle von symptomatisch oder asymptomatisch infizierten Katzen ausgeschüttet werden. FeLV und FIV können unter anderem zu schwerer Gingivitis führen (Kraft, 2000).

Auch bei Autoimmunerkrankungen wie systemischen Lupus erythematodes, Pemphigus und Idiopathischer Vaskulitis sowie bei kongenitalen Immundefekten ist die körpereigene Abwehr geschwächt (Pedersen, 1992).

Das Alter ist nicht prädisponierend für Parodontalerkrankungen. Allerdings wird mit dem Alter die Immunabwehr schwächer und damit auch die Wirtsantwort auf Plaquemikroorganis-

men. Auch Stress und Mangelernährung kann dazu führen, dass die Funktion des Immunsystems beeinträchtigt wird (Clarke und Hirsch, 1995; Weber, 2003). Schwere Allgemeinerkrankungen, genetische Disposition, Störungen im Hormonhaushalt sowie Medikamentennebenwirkungen können ebenfalls zu einer Gingivitis oder Parodontitis führen bzw. sie fördern (Crawford, 1988; Rateitschak, 1989). Schwere Erkrankungen des Parodonts können z.B. bei Diabetes mellitus auftreten. Diabetes gilt dabei als Risikofaktor für die Entstehung parodontaler Erkrankungen (Grossi und Genco, 1998).

### 3.1.2 Plaque

Bakterien, die eingelagert in eine Polysaccharid-Proteinmatrix sind, gemengt mit Speichelmuzyne, Nahrungsresten und abgeschilferten Epithelzellen, bilden einen zähen, auf der Zahnoberfläche haftenden Belag. Diesen gelb-grauen Zahnbelag bezeichnet man als Plaque (Bieniek und Bieniek, 1993).

Plaque entsteht, indem sich Glykoproteine aus dem Speichel an die glatte Zahnoberfläche anlagern. Dieser Proteinfilm (Pellicle) bildet sich auch ohne Aufnahme von Futter bereits innerhalb einer Stunde nach Reinigung der Zähne. Seine Dicke beträgt 0,1 bis 10 µm (Buddecke, 1981; Hefferren et al., 1994). Auch decarboxylierte Aminosäuren, Polypeptide, Fette und Glykoproteine aus dem Futter können zur Entstehung eines solchen Proteinfilmes beitragen (Scannapieco und Levine, 1990). Bestimmte aerobe, gram-positive Bakterien – vor allem *Streptococcus* sp. und *Actinomyces* sp.- können sich an diese Proteine auf der Zahnoberfläche heften (Hennet, 1995b; Whittaker et al., 1996). Diese initial an der Schmelzoberfläche über die Pellicle anhaftenden Bakterien produzieren Polysaccharide, die es anderen Bakterien ermöglichen, sich ebenfalls anzulagern (Abbildung 4)(Hennet, 1995b).

Einige Bakterien sind in der Lage, Säuren zu produzieren, die den Zahnschmelz demineralisieren und dadurch die Zahnoberfläche aufrauen. Dadurch wird ebenfalls die Anheftung von Bakterien auf der Zahnoberfläche gefördert (Bieniek und Bieniek, 1993; Whittaker et al., 1996).

Durch fortschreitende Anlagerung von Bakterien, Proteinen, Polysacchariden, Speichelmuzyne, Nahrungsresten und abgeschilferten Epithelzellen nimmt die Dicke des Plaquebelages stetig zu. Die gebildete Plaque verhindert zunehmend, dass der Speichel seine remineralisierende Aufgabe am Zahnschmelz erfüllen kann und behindert die Selbstreinigungsmechanismen in der Maulhöhle (siehe Kapitel B 2.1) (Bieniek und Bieniek, 1993).

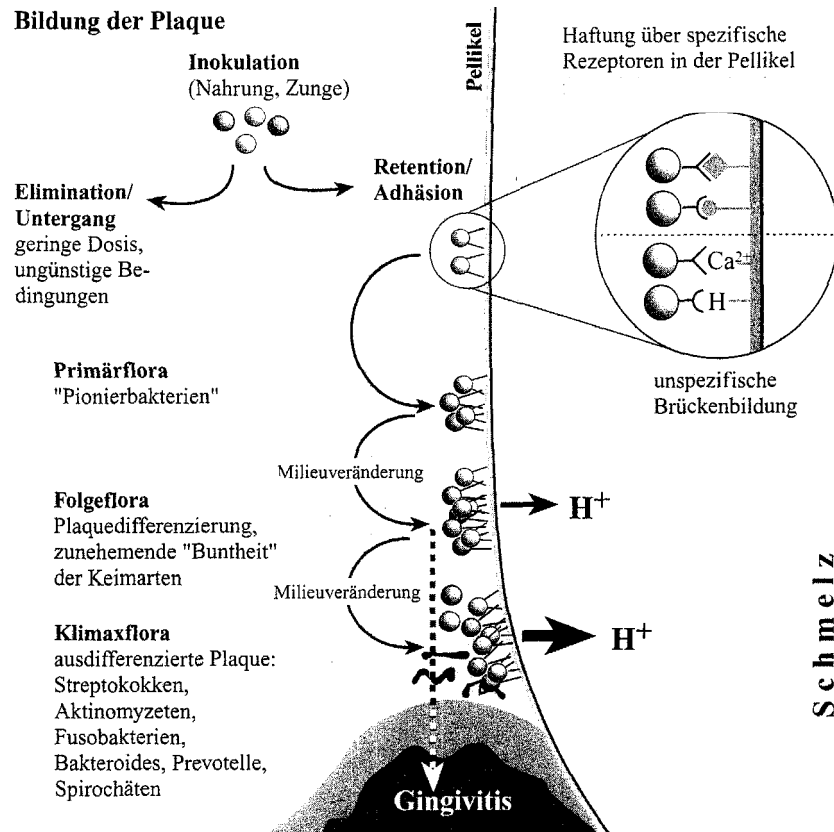


Abbildung 4: Schema der Plaquebildung (Weber, 2003)

Plaque lässt sich nicht wegspülen, sondern muss mechanisch entfernt werden (Rateitschak, 1989). Futterreste (Food debris) allein bedingen keine Plaque. Sie haften nicht und können ausgespült werden, wenn sie nicht in Fissuren, Nischen oder Taschen gefangen gehalten werden (Food impaction). Bevorzugte Anhaftungsstellen für Plaque sind die Zahnzwischenräume, Zahnfissuren, die Schmelz-Zement-Grenze, der gingivale Sulcus und raue Zahnoberflächen. Plaque breitet sich demnach nicht nur supra- sondern auch subgingival aus. Supragingivale Plaque bildet sich auf der Zahnoberfläche innerhalb von 6 Stunden und kann innerhalb von 48 Stunden pathogen wirken. Die Dicke der Plaque nimmt in Richtung auf den gingivalen Sulcus zu (Bieniek und Bieniek, 1993; Harvey und Emily, 1993). Subgingivale Plaque bildet sich erst nach der supragingivalen. Wenn das gingivale Gewebe sich durch die Plaque entzündet und ödematös wird, können die Mikroorganismen in das Gewebe eindringen und im gingivalen Sulcus weitere Plaque bilden (Hefferren et al., 1994). Die Plaque im gingivalen

---

Sulcus kann entweder frei-fließend oder angeheftet an die Gingiva bzw. an die Zahnoberfläche vorliegen (Holmstrom, 2000).

### 3.1.3 Zahnstein

Zahnstein entsteht auf den Zahnkronen durch die Einlagerung von Mineralen des Speichels in die Plaquebeläge. Der Speichel enthält die Mineralien Natrium, Kalium, Kalzium, Magnesium und Zink in Form von Phosphaten, Karbonaten, Sulfaten, Chloriden und Fluoriden. Durch Mineralisation der Plaque entsteht Zahnstein (Bieniek und Bieniek, 1993). Dieser ist hart, gelb, braun oder braun-schwarz. Vom Zahnstein zu unterscheiden sind subgingivale harte Beläge auf der Wurzeloberfläche. Sie werden von vielen Autoren auch als subgingivaler Zahnstein bezeichnet. Sie mineralisieren sich allerdings durch Ausfällungen aus dem sulcus-fluid, dem Exsudat irritierter oder entzündeter Gingiva, und werden korrekt als Konkremente bezeichnet (Barthold, 1987). Diese sind häufig durch Abbauprodukte des Blutes (Hämosiderin) grünlich oder grünbraun gefärbt (Eisenmenger und Zetner, 1982) und bilden sich langsamer als Zahnstein (Shipp und Fahrenkrug, 1992).

Bei Analysen von humanen und tierischen Zahnsteinproben wurden durchaus Unterschiede festgestellt. Zahnstein von Katzen besteht hauptsächlich aus Karbonaten, die Hydroxyapatit in Form von  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_3(\text{CO}_3)_3(\text{OH})_2$  enthalten. Andere Formen von Kalziumphosphaten, die im Zahnstein des Menschen zu finden sind, und Kalziumcarbonaten, wie sie sich im Zahnstein vom Pferd und Hund befinden, konnten bei der Katze nicht festgestellt werden. Bei allen zuvor genannten Tieren und beim Mensch wurden im Zahnstein jedoch Spuren von Magnesium und Ammonium nachgewiesen (Clarke, 1999; White, 1997). Neben der anorganischen Komponente besteht Zahnstein zu 20 bis 25 Prozent aus organischem Material, das durch Mikroorganismen, mikrobielle Polysaccharide und Speichelproteine bzw. Glykoproteine repräsentiert wird (Buddecke, 1981).

Die Bildung von Zahnstein ist am stärksten an den Prämolaren und Molaren des Oberkiefers auf der buccalen Zahnfläche. Dort endet auch der Ausführungsgang des Ductus parotideus. Die Bildung von Zahnstein tritt rasch nach ergriffenen Prophylaxemaßnahmen (Reinigung der Maulhöhle) ein. Nach einer Woche sind bereits Zahnsteinablagerungen zu erkennen. Das Peak der Zahnsteinbildung ist nach 4 Wochen erreicht (Boyce, 1992). Zahnstein mit einer marginalen Gingivitis kann erst ab einem Alter von 2 Jahren bei Katzen beobachtet werden (Harvey, 2002; Reichart et al., 1984). Nach Schulp weisen reinrassige Katzen, wie z.B. die Siamkatze, eine höhere Inzidenz für Zahnstein auf als Europäische Kurzhaarkatzen.

Früher wurde angenommen, dass Zahnstein die Gingiva mechanisch reizt und auf diesem Weg Gingivitis und andere parodontale Erkrankungen verursacht (Eisenmenger und Zetner, 1982). Es konnte jedoch nie ein direkter Zusammenhang zwischen Zahnstein und Gingivitis nachgewiesen werden. Feststeht, dass Zahnstein durch seine raue Oberfläche die Anlagerung weiterer Plaque begünstigt, die dann zu Gingivitis führen kann (Boyce, 1992).

## **3.2 Auswirkung von Plaque und Zahnstein auf die Maulhöhle**

Parodontale Erkrankungen können eine starke Schwächung des Gesundheitszustandes bewirken. Der gingivale Sulcus ist eine Nische, die der Anheftung von Plaque besonders dienlich ist (Bieniek und Bieniek, 1993). Von hier aus wird das Saumband des Epithels und anschließend das Desmodont geschädigt, indem die anfängliche Gingivitis in Richtung Zahnwurzel vorwärts schreitet und zur Parodontitis führt. Letztendlich kann der Zerstörungsprozess zum Zahnausfall führen (Gaskell und Gruffydd-Jones, 1985; Grove, 1985; Lane, 1982).

Im folgenden wird auf die Pathogenese und die klinischen Symptome parodontaler Erkrankungen eingegangen.

### **3.2.1 Pathogenese parodontaler Erkrankungen**

Die Pathogenese parodontaler Erkrankungen ist nicht vollständig geklärt. Feststeht, dass die Plaquemikroorganismen und die Entzündungsreaktionen des Wirtes zu einer Zerstörung des Parodonts führen. (Gorrel, 1998). Es wird angenommen, dass die in Kapitel B 3.2.1.2 besprochenen chemotaktischen und antigenen Plaquestoffe von Bakterien für die im folgenden beschriebenen Reaktionen verantwortlich sind. Sie fügen dem gingivalen Gewebe direkten Schaden zu und sind die Initiatoren parodontaler Erkrankungen. Viele mikrobielle Produkte haben keinen oder nur geringe direkte toxische Wirkung auf den Wirt, sie können allerdings die Immunabwehr (host response) und Entzündungsreaktionen des Wirtes aktivieren. Die Abwehr kann so stark aktiviert werden, dass sie dem Wirt mehr schadet als ihn zu schützen (Gorrel, 1998; Harvey, 1991; Hellwig, 1999; Offenbacher, 1996)

### 3.2.1.1 Flora bei parodontalen Erkrankungen

Parodontale Erkrankungen werden verursacht durch übermäßige Akkumulation von Bakterien auf der Zahnoberfläche und am Gingivarand (Hennet, 1995b). Über die Mikrobiologie parodontaler Erkrankungen bei der Katze existiert jedoch bis heute noch keine grundlegende, detaillierte Studie. Einigkeit besteht darüber, dass sich bei parodontalen Erkrankungen der Katze die Bakterienflora von gram-positiven aeroben Bakterien zu überwiegend gram-negativen anaeroben Bakterien verschiebt (Listgarten, 1988; Loesche et al., 1985; Mallonee et al., 1988; Slots, 1976; Tanner et al., 1979). Neu gebildete Plaque setzt sich überwiegend aus aeroben, gram-positiven Bakterien zusammen. Je dicker die Plaqueschicht wird, desto niedriger wird der Sauerstoffpartialdruck in Richtung auf das Plaquezentrum, so dass in älterer Plaque optimale Bedingungen für anaerobe gram-negative Keime bestehen. Diese ältere Plaque ist durch die anaeroben Bakterien wesentlich toxischer als frisch entstandene Beläge (Buddecke, 1981). Aus der Maulhöhle der Katze wird häufig ein schwarz-pigmentierter Keim aus der *Bacteroides* Gruppe, der sich biochemisch ähnlich zu *Bacteroides gingivalis* verhält, isoliert. Diese *Bacteroides* sp. bilden einen Hauptteil der anaeroben Flora in der Maulhöhle. Obwohl dieser Keim auch in der gesunden und nicht nur in der erkrankten Maulhöhle von Katzen isoliert wurde, wird ihm ein Bezug zu parodontalen Erkrankungen, der für die Katze allerdings noch nicht nachgewiesen werden konnte, zugesprochen (Love et al., 1989; Mallonee et al., 1988). Ebenso scheint *Peptostreptococcus anaerobius* in positiver Korrelation mit fortgeschrittenen Stadien parodontaler Erkrankungen gehäuft vorzukommen. *Pasteurella multocida* wird bei den meisten Katzen – gesunde wie parodontalerkrankte – vorgefunden (Mallonee et al., 1988). Harvey (1991) erklärt *Pasteurella multocida* zu einem unwichtigen Faktor in der Entwicklung parodontaler Erkrankungen der Katze. Mihalevick und Klein (1998) dagegen wiesen bei Katzen mit entzündlich veränderter Maulhöhlenschleimhaut signifikant häufiger *Pasteurella multocida* nach als bei gesunden Tieren. Die Spezies *Streptococcus bovis*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus canis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus adjacens* und *Streptococcus dysgalactiae* wiesen sie nur bei erkrankten Katzen nach. Norris und Love (1998) isolierten verschiedene *Porphyromonas* sp. bei der gesunden und der kranken Katze aus der Maulhöhle. Sie stellten eine positive Korrelation zwischen den isolierten *Porphyromonas* sp. und Parodontalerkrankungen der Katze fest. Bakterien wie *Eikenella corrodens* und *Wolinella recta* wurden bislang weniger häufig isoliert. Es konnte keine Korrelation zwischen diesen Keimen und parodontalen Erkrankungen der Katze festgestellt werden (Mallonee et al., 1988). Allerdings bleibt die Rolle dieser Keime bei Parodontalerkrankungen unklar, da in verschiedenen Studien über parodontale Erkan-



kungen beim Menschen Korrelationen festgestellt wurden. Für *Wolinella recta* wurde eine positive Korrelation mit parodontalen Erkrankungen beim Mensch nachgewiesen (Dzink et al., 1985; Moore et al., 1987; Tanner et al., 1987). Bei *Eikenella corrodens* herrscht selbst in der Humanmedizin Uneinigkeit. Es wurden negative (Tanner et al., 1979) aber auch positiv Korrelationen (Savitt und Socransky, 1984) zu parodontalen Erkrankungen nachgewiesen.

Weitere aerobe Keime, die aus der Maulhöhle der Katze isoliert werden konnten, sind: *Micrococcus* sp., *Escherichia coli* und andere *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., alpha hämolysierende Streptokokken, Coagulase positive Staphylokokken, *Lactobacillus* spp., *Neisseria* spp., *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Campylobacter* sp. und *Capnocytophaga* sp. (Hennet, 1995a; Mallonee et al., 1988; Zetner et al., 1993). Ebenso wurden auch weitere anaerobe Keime isoliert: *Eubacterium* spp, *Clostridium* spp., *Fusobacterium* spp., *Veillonella* spp., *Porphyromonas* spp. (Hennet, 1995b), Spirochäten, wie z. B. *Treponema maltophilum*, *Treponema socranskii* (Valdez et al., 2000) und Borrelien (Pedersen, 1992).

### 3.2.1.2 Mögliche bakterielle Effekte bei parodontalen Erkrankungen

Bakterien haben die unterschiedlichsten Mechanismen entwickelt, um sich in ihrem Wirt zu vermehren und dort zu überleben. Diese Mechanismen führen häufig zur Schädigung des Wirtes.

Bakterien wie Spirochäten und *Actinobacillus actinomycetemcomitans* haben die Fähigkeit ins parodontale Gewebe einzudringen. Hier können sie nicht durch den Speichel weggespült werden. Sie induzieren dadurch Gewebeschäden und reduzieren den Widerstand des Gewebes gegen mechanische Belastung (Fives-Taylor et al., 1999). Es existieren mehrere Mechanismen zur Gewebeerstörung. Endotoxine, die Lipopolysaccharide (LPS) von gram-negativen Bakterien, sind hochpotente toxische Substanzen, die an der Pathogenese parodontaler Erkrankungen beteiligt sein könnten (Mergenhausen, 1967). Sie dringen in das Parodont ein und wirken zytotoxisch auf Zellen wie z. B. Fibroblasten, sie induzieren die Resorption des Alveolarknochens und aktivieren Entzündungsmediatoren (Bahn, 2000; Hennet, 1995b). Zur Resorption des Alveolarknochens führen neben LPS auch produzierte Säuren von gram-positiven Bakterien und andere Zellwandkomponenten, die alle die Aktivität der Osteoklasten aktivieren. Stoffwechselprodukte wie Ammoniak, Indole, Glycane, Fett- und organische Säuren sind cytotoxische Nebenprodukte der Bakterien (Hennet, 1995b). Enzyme, wie Hyaluronidase, Kollagenase, Phospholipase A, fibrinolytische und proteolytische Enzyme, die von

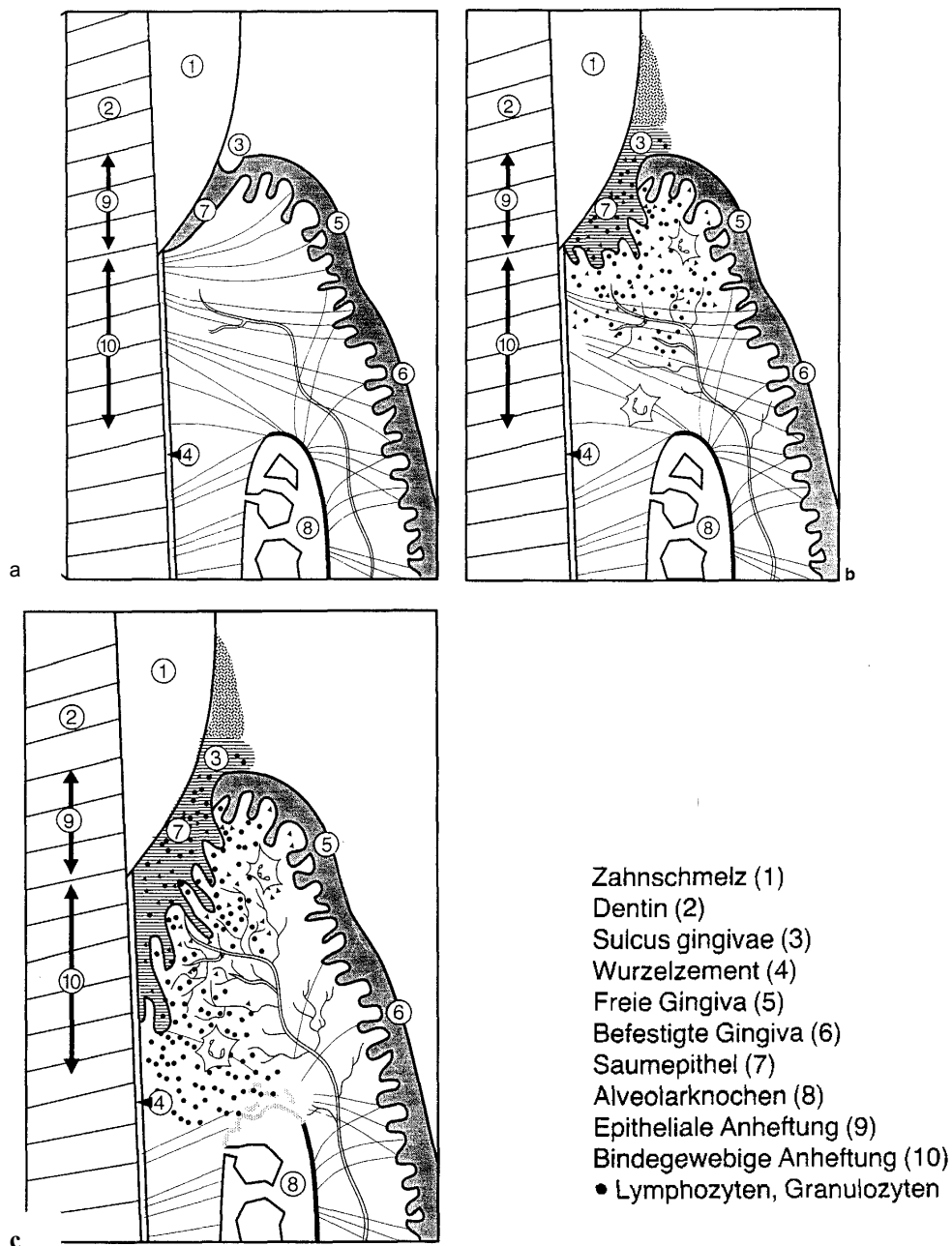
verschiedenen Bakterien produziert werden, zerstören direkt parodontales Gewebe (Bahn, 2000; Dewar, 1958; Rovelstad et al., 1958; Soder und Frostell, 1966).

Einige Mechanismen der Bakterien führen zur Immunsuppression des Wirtes durch die Bakterien. Sie können Einfluss auf die Phagozytoseaktivität nehmen, können zur B- und T-Lymphozyten-Suppression führen und können die spezifische Immunantwort verändern. *Porphyromonas gingivalis* kann so eine Immunglobulin-Protease produzieren, die zur Zerstörung von Immunglobulinen führt (Hennet, 1995b; Lamont und Jenkinson, 1998).

Selten kommt es zur Exotoxinproduktion von Bakterien bei parodontaler Erkrankungen. *Actinobacillus actinomycetocomicus* produziert z. B. ein Leukotoxin, welches in der Lage ist menschliche neutrophile Granulozyten zu zerstören, bei Parodontalerkrankungen der Katze wurde dieses Leukotoxin jedoch noch nicht aus der Plaque nachgewiesen (Hennet, 1995b).

### **3.2.1.3 Reaktion des Wirtes**

Das gesunde Gingivaepithel (Abbildung 5 a) reagiert auf eine beginnende Ansammlung mikrobieller Zahnbeläge mit einer klassischen akuten, exsudativen (sezernierenden) Gefäßentzündung. Diese Initialphase, die von einem Verlust von perivaskulärem Kollagen begleitet wird, unterscheidet sich kaum von solchen, die als Antwort auf eine akute Schädigung in den meisten anderen Geweben des Körpers auftreten (Dobrescu, 1997). Diese Entzündung bleibt lokal beschränkt und führt in der Regel nicht zu wesentlichen Beeinträchtigungen des betroffenen Tieres. Bei einwirkenden Reizen, zunehmender Plaque und deren Wirkung - durch z. B. ins parodontale Gewebe eindringende LPS und andere bakterielle Produkte - werden die Permeabilität der Gefäße und die Blutfülle gesteigert. Host defense Zellen wie Monozyten und Makrophagen erscheinen in relativ großer Zahl. Nur vereinzelt treten Plasmazellen auf. LPS können an die Oberflächenrezeptoren von Monozyten und Makrophagen binden. Binden sie sich an die CD14-Rezeptoren dieser Zellen, kommt es zur Expression und Freisetzung lokaler Entzündungsmediatoren wie Zytokinen und Arachidonsäuremetaboliten. Die Abwehrzellen wandern zum sich leicht vertiefenden Sulcus und bilden einen Wall gegen eindringende Noxen (Offenbacher, 1996). Die Sulcusflüssigkeit enthält Serumproteine und Immunglobuline. Der Bindegewebsanteil der Gingiva ist relativ vermindert (Bieniek und Bieniek, 1993; Offenbacher, 1996).



**Abbildung 5: Entstehung von Gingivitis und Parodontitis: normale Gingiva (a), Gingivitis (b) Parodontitis (c) (Bieniek und Bienik, 1993)**

Bei Fortbestand oder Verstärkung der Reize kommt es zu einer immer stärkeren Proliferation des Saumepithels. Die Zellmigration und mit ihr die Sulcusflüssigkeit nehmen zu (Bieniek und Bieniek, 1993). Die fortgeschrittene Phase parodontaler Erkrankungen ist deshalb charakterisiert durch das Auftreten einer proliferativ-exsudativen Entzündung. Diese ist initial lokalisiert und wird später durch eine dichte Infiltration mit Plasmazellen, Lymphozyten,

neutrophilen Granulozyten und einigen Makrophagen zu einem entzündlichen Infiltrat mit diffusen Herden. Der Immunglobulingehalt im gingivalen Gewebe ist entsprechend gesteigert (Hellwig, 1999). Die gingivalen Fibroblasten zeigen pathologische Veränderungen und das Bindegewebe geht zunehmend verloren (Reichart et al., 1984; Toto und Gargiulo, 1970). Derartige Läsionen sind am häufigsten anzutreffen. Diese Phase ist ohne wesentlichen Knochen-schwund und kann sich über Monate und Jahre hinziehen, oder aber recht schnell in eine progressive destruktive Parodontalläsion übergehen. Die auslösenden Faktoren hierfür sind noch unbekannt. Während dieser Phase kann es bereits zur Bildung von Zahnfleischtaschen kommen (Dobrescu, 1997), indem die Anheftung des Saumepithels am Zahnschmelz in Richtung auf die Schmelz-Zement-Grenze gelockert wird. Es entsteht eine gingivale Tasche, in der Plaque-Bakterien, insbesondere anaerobe, sich ansiedeln und vermehren können. Die genannten pathologischen Veränderungen betreffen bis dahin nur die Gingiva und sind als Gingivitis (Abbildung 5 b) zu bezeichnen (Rateitschak, 1989).

In

Abbildung 6 sind die wesentlichen Schritte, die zur Taschenbildung führen vereinfacht dargestellt.

Die Mikroorganismen in dem vertieften Sulcus entfalten ihre toxisch gewebsschädigende, enzymatisch gewebsschädigende Wirkung. Die Gewebserstörung bedingt eine starke Emigration von phagozytierenden Granulozyten, so dass sich eitriges Exsudat bilden kann. Häufig kommt es auch zu einer Verdünnung des Epithels und Ulzerationen. Im Infiltrationsbereich findet ein anhaltender Abbau von Kollagen statt, wobei die dafür verantwortlichen Kollagenasen von den Zellen des Wirtes gebildet werden. In tieferen Abschnitten zeigen sich im Bindegewebe Fibrosierung und narbige Verdichtung (Dobrescu, 1997; Ma et al., 2003; Williams und Aller, 1992). Im Verlaufe dieser Prozesse wird das Saumepithel zahnseitig zerstört, so dass die Anheftung am Schmelz gänzlich verloren geht (epithelialer Attachmentverlust). Die Gewebeerstörung erfasst nun auch die bindegewebigen Gingivastrukturen, was zu einem bindegewebigen Attachmentverlust und auch zum Freilegen der Zahnwurzel führt. Schließlich greift der Prozess auf das Desmodont und die Alveolarknochen über, es entsteht eine Parodontitis (Abbildung 5 c) (Bieniek und Bieniek, 1993; Eisner, 1989). Die pathologischen Charakteristika mit fortgeschrittener Läsion sind folgende: Fortbestehen der entzündlichen Veränderungen der etablierten Läsion, Übergreifen der Erkrankung auf den Alveolarknochen und das Desmodont, Fortschreiten des Kollagenabbaus in den an das Taschenepithel angrenzenden Zonen, Auftreten von zytopathologisch veränderten Plasmazellen, Destruktionsprozesse im Alveolar-

fortsatz und ausgedehnte entzündliche und immunopathologische Gewebereaktionen. Die exsudativen Prozesse steigern sich. Es besteht Plasmazelldominanz. Smith et al. stellten 1980 die Hypothese auf, dass die Periodontitis durch Hyperaktivität der B-Zellen zustande kommt. Das von den B-Zellen produzierte Interleukin ist ein wichtiger Faktor bei der Knochenresorption. Es kann zur Autoantikörperproduktion gegen Kollagen, zell-vermittelten zytotoxischen Reaktionen, Immunkomplexbildung und Komplementaktivierung führen (Seymour et al., 1996; Smith et al., 1980; Tew et al., 1989). Maßgebliche pathohistologische Merkmale der fortgeschrittenen Läsionen sind die Umwandlung des inneren Saumepithels in ein Taschenepithel, der Abbau des Bindegewebes und die Knochendestruktion (Dobrescu, 1997; Reichart et al., 1984). Die auftretenden Substanzverluste sind irreversibel (DeBowes, 1998)

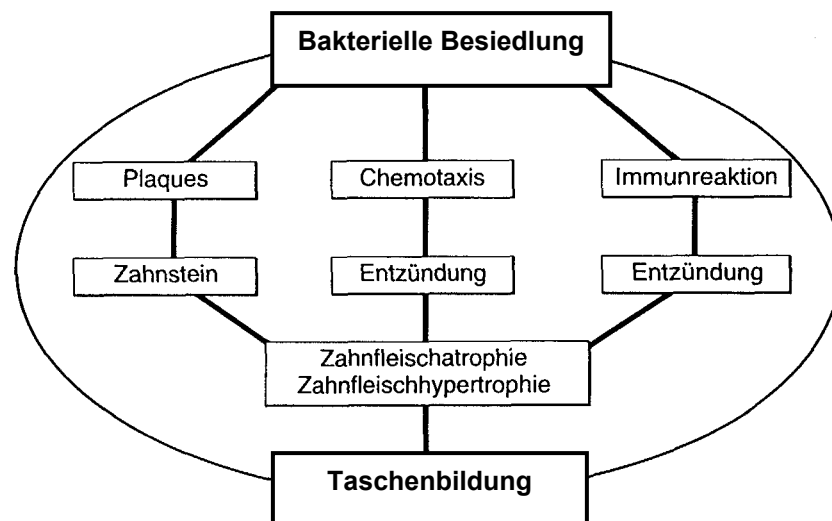


Abbildung 6: Pathogenese der Bildung von Zahnfleischtaschen (Kraft, 2000)

### 3.2.2 Klinische Symptome bei parodontalen Erkrankungen

Nach Dobrescu (1997) unterscheidet man drei Stadien der Parodontopathien bei der Katze. Das erste Stadium, das Anfangs- oder Debütstadium, ist gekennzeichnet durch eine Gingivitis marginalis oder simplex durch die Ansammlung bakterieller Plaque. Zunächst ist nur der freie Teil der Gingiva betroffen. Die klinischen Anfangssymptome sind Rötung der Gingiva, leicht-

ter Maulgeruch (Halitosis), Sialorrhoe beim Fressen, Schwierigkeiten beim Kauen von Trockenfutter, Erbrechen, Appetitlosigkeit und Aggressivität bei Kopfberührungen (Dobrescu, 1997; Harvey, 1991). Die Entwicklung einer Gingivitis simplex ist plapuebedingt, sie kann akut oder chronisch verlaufen und ist reversibel (Nolte und Eickhoff, 2003).

Das fortgeschrittene Stadium ist durch Gingivostomatitis und Parodontitis marginalis superficialis und profunda als Folge der intensiven bakteriellen Aktivität charakterisiert. Es können sich blutige Sialorrhoe, übler starker Maulgeruch, große Schmerzen bei Backendruck, erhöhte Aggressivität, Appetitlosigkeit, Schwierigkeiten beim Fressen und Kauen, Gewichtsverlust und Störungen im Verdauungstrakt wie Diarrhoe und Erbrechen zeigen. Die Gingiva ist stärker gerötet, und ödematös geschwollen (Dobrescu, 1997; Frost und Williams, 1986; Williams und Aller, 1992).

Im letzten Stadium, dem degenerativen Stadium mit Zahnausfall, treten nach Dobrescu (1997) zwei markante degenerative Veränderungen auf: eine Parodontosis septica complicata mit entzündlichen Parodontalformen und eine Parodontosis sicca aseptica. Die klinischen Symptome der Parodontosis septica complicata werden wie folgt charakterisiert: gerötete, ödematös geschwollene, möglicherweise spontan blutende und eventuell ulzerativ veränderte Gingiva, Abmagerung, apathischer Allgemeinzustand, permanente Sialorrhoe, Erbrechen, starke Schmerzen bei Backendruck mit erhöhter Aggressivität, Zahnlockerung mit Zahnausfall, abgebrochene Zähne und Wurzelreste (Frost und Williams, 1986; Sams und Harvey, 1989). Ferner wurden bei dieser Form alle entzündlichen Parodontalformen festgestellt. Die Parodontosis sicca aseptica ist eine degenerativ-dystrophische Form der Parodontiden ohne Entzündungsprozesse. Klinisch zeigt sich eine an den Zahnhälsen apikalwärts zurückgezogene Gingiva (Gingivarezession). Es kann auch das Wurzelzement frei liegen. Die Gingiva zeigt keine oder nur geringe Entzündungserscheinungen. Auch der Alveolarfortsatz zeigt nur geringgradige Veränderungen. Die Parodontosis sicca aseptica schreitet sehr langsam fort. Die Gingiva zieht sich ganz allmählich immer weiter zurück und der Alveolarfortsatz wird Schicht um Schicht immer weiter abgebaut. Eine Lockerung der Zähne tritt erst relativ spät auf. Bakterien spielen bei diesen Schwundvorgängen keine Rolle, im Gegensatz zur eine Parodontosis septica complicata. Bisher ist kein endogener Faktor gefunden worden, der für die Parodontosis sicca aseptica verantwortlich ist (Dobrescu, 1997).

Bei einer Parodontitis kommt es im Gegensatz zur Gingivitis simplex zu irreversiblen Veränderungen des Zahnhalteapparate (Nolte und Eickhoff, 2003).

Häufig treten bei parodontalerkrankten Katzen auch Stomatitis und odontoklastisch resorptive Läsionen („neck lesions“) auf. Die Ätiologie ist bis heute ungeklärt, die Akkumulation von Plaque scheint aber in der Pathogenese dieser Erkrankungen eine Rolle zu spielen (Williams und Aller, 1992).

### **3.3 Auswirkung parodontaler Erkrankungen auf den Gesamtorganismus**

Parodontale Erkrankungen können zu systemischen Erkrankungen im Organismus führen.

Bakterien der Maulhöhle wie *Actinomyces actinomycetocomitans* und *Porphyromonas gingivalis* können in Epithelzellen eindringen und im Gewebe zu Entzündungen und Blutungen führen. Durch die Blutungen können auch nicht-invasive Keime und deren Produkte in die Blutbahn gelangen (Meyer und Fives-Taylor, 1998). Es werden drei verschiedene Wege, die von oralen Infektionen zu systemischen Erkrankungen führen, angenommen. Zum einen kann es zur metastatische Streuung der Infektion in der Maulhöhle, als ein Ergebnis einer transienten Bakteriämie, kommen. Oder es kann ein metastatischer Schaden von den Wirkungen der zirkulierenden mikrobiellen Toxine im Organismus entstehen. Möglich ist auch eine metastatische Entzündung im Organismus durch den Schaden der oralen Mikroorganismen (Teng et al., 2002).

In der Humanmedizin existieren viele Studien über den Zusammenhang zwischen parodontalen und systemischen Erkrankungen. Man nimmt vor allem einen Zusammenhang von parodontalen Erkrankungen mit bestimmten Herzerkrankungen an. Bakterien die in der Blutbahn zirkulieren, können sich an die Herzklappen anheften, dort aggregieren und die Akkumulation von Thrombozyten und Fibrin verursachen. Dies führt schließlich zur Schädigung der Herzklappe (Meyer und Fives-Taylor, 1998). LPS und andere bakterielle Produkte können zur Ausschüttung von Entzündungsmediatoren wie Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNF- $\alpha$ ), Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) und Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) führen und damit zur Entzündung in der Maulhöhle. Das könnte auch Auswirkungen auf andere Organsysteme haben. Prostaglandine bewirken oxidativen Stress, Oxidation von lowdensity Lipoproteinen und Kontraktion der glatten Muskulatur. Cytokine können die endotheliale Adhesion, Hyperlipidämie und Stoffwechselstörungen bewirken (Ebersole et al., 1999; Fowler, 2001). Diese Mechanismen könnten ebenfalls eine bedeutende Rolle bei der Entstehung von Herzerkrankungen und coronarer

Atherosklerose darstellen (Beck et al., 1996; Offenbacher, 1996). So können chronische bakterielle Infektionen, wie sie durch *Porphyromonas gingivalis* verursacht werden, zu akuten thromboembolischen Ereignissen führen. Außerdem kann dieser Keim Endothelzellen aktivieren, was auch zu Artherosklerose führen kann (Teng et al., 2002).

Durch Aspiration von Bakterien der oropharyngealen Flora können Keime in den unteren Abschnitt des Respirationstrakt gelangen. Bei geschwächter Abwehr können sie sich dort an die Mukosa anheften, vermehren und dadurch Infektionen verursachen. Es resultieren Pneumonien und Abszesse in der Lunge, die vor allem von anaeroben Keimen verursacht werden. Plaque scheint eine Quelle für diese Erreger darzustellen, vor allem die Plaque, die sich bei parodontalen Erkrankungen bildet und potentielle respiratorische Krankheitserreger beinhaltet wie einige *Enterobacteriaceae* und z. B. auch *Staphylococcus aureus*. Bakterien wie *Actinobacillus actinomycetocomitans*, *Porphyromonas gingivalis* und *Fusobacterium* spp. können ebenso aspiriert werden und Pneumonien verursachen (Scannapieco und Mylotte, 1996).

In der Veterinärmedizin wird diese mögliche Schädigung anderer Organe als Folge oraler Erkrankungen ebenso angenommen. Bakterielle Endokarditis, Glomerulonephritis, Polyarthrit, Polyvaskulitis, Autoimmunerkrankungen, Diskospondylitis, Lungenerkrankungen und Endotoxämie wurden von verschiedenen Autoren gehäuft im Zusammenhang mit Parodontalerkrankungen beobachtet, der direkte Zusammenhang wurde allerdings noch nicht nachgewiesen (DeBowes, 1993).



## 4 Therapie und Prophylaxe parodontaler Erkrankungen

Therapie und Prophylaxemaßnahmen parodontaler Erkrankungen können nicht klar voneinander getrennt werden, da viele Behandlungen, die zur Therapie durchgeführt werden, gleichzeitig der erneuten Entstehung parodontaler Erkrankungen entgegenwirken. Im folgenden wird zunächst auf die überwiegend zu therapeutischen Zwecken durchgeführten Behandlungen eingegangen. Die erwähnten Maßnahmen können auch Teil eines Prophylaxeprogramms sein, das anschließend kurz erläutert wird.

### 4.1 Therapiemaßnahmen

Eine der wichtigsten Erkenntnisse auf dem Gebiet der wissenschaftlichen Parodontologie beim Tier und Menschen ist die Tatsache, dass die Parodontalerkrankung im Anfangs- und fortgeschrittenen Stadium heilbar ist. Ihr muss nicht zwangsläufig das degenerative Stadium mit Zahnausfall folgen. Die auszuführende Therapie ist vom vorhandenen Stadium der Parodontopathie abhängig (Dobrescu, 1997). Eine Therapie ist immer notwendig, wenn eine Gingivitis mit subgingivaler Plaqueansammlung vorliegt, sich viel Zahnstein gebildet hat oder eine Parodontitis diagnostiziert wurde. Ziele sind die Wiederherstellung der Zahngesundheit und die Entfernung von Plaque und Zahnstein von der Zahnoberfläche mit anschließender Glättung des Zahnes durch eine Politur (DeBowes, 1998).

Für eine korrekt durchgeführte Therapie ist eine Allgemeinanästhesie des Tieres erforderlich. In der unmittelbaren Umgebung arbeitendes Personal sollte Mundschutz und Handschuhe tragen, da bei der Zahnsanierung entstehender Sprühnebel viele aerosolartig aufgewirbelte Plaquebakterien enthält (DeBowes, 1998; Eisenmenger und Zetner, 1984). Wegen einer möglichen Bakteriämie während oder nach der Behandlung, sollte bei schwereren Parodontalerkrankungen sowohl zum Schutz des Patienten, als auch des Behandlers vor bakterienhaltigem Aerosol, eine mehrtägige Vorbehandlung mit plaquewirksamen Chemotherapeutika durchgeführt werden (Nieves et al., 1997; Zetner et al., 2002).

Zunächst werden dicke Zahnsteinbeläge, die sich auf der Zahnkrone befinden, grob entfernt. Dazu wird eine Extraktionszange verwendet. Es ist darauf zu achten, dass der Zahn und das ihn umgebende Gewebe nicht geschädigt werden. Anschließend werden alle Zahnsteinfragmente aus der Maulhöhle entfernt (Barthold, 1987).

Es folgt die Säuberung der Zähne mittels Scaling. Dabei werden sowohl Plaque als auch Zahnstein entfernt. Der Großteil der Beläge kann mit mechanischen Instrumenten entfernt werden (Ultraschallscaler, Sonarscaler, rotierende Scaler). Bei Verwendung eines dafür geeigneten Aufsatzes kann mit den genannten mechanischen Instrumenten auch subgingival gearbeitet werden. Die Entfernung subgingivaler Beläge ist wichtig, um periodontale Prozesse aufzuhalten. Ultraschall- und rotierende Scaler produzieren Wärme, weshalb mit diesen Instrumenten maximal 10 bis 15 Sekunden an einem Zahn gearbeitet werden kann. Für ein korrektes Scaling wird die Seite des Instrumentes sanft über den Zahn geführt. Das Aufsetzen der scharfen Spitze des Scalers auf die Zahnoberfläche ist zu vermeiden. Dabei kann es zu Schäden in der Schmelzschicht kommen, sie kann stark aufgeraut werden und damit kann die erneute Anheftung von Bakterien begünstigt werden (Emily und Penman, 1990). Für schwer zugängliche supragingivale Areale und für das subgingivale Scaling werden Handinstrumente, z.B. Küretten, eingesetzt. Küretten haben abgerundete Seiten und eine runde Spitze im Gegensatz zu Scalern. Beim subgingivalen Arbeiten können so Traumata des umliegenden Gewebes vermieden werden (Holmstrom, 2000).

Haben sich bereits tiefe Taschen gebildet, wird nach dem subgingivalen Scaling eine Wurzelglättung durchgeführt. Ziel der Wurzelglättung ist die Entfernung kleiner Unebenheiten und einer dünnen Schicht Zements. Letzterer enthält meist Bakterien und bakterielle Toxine. Für die Wurzelglättung wird eine Kürette verwendet. Sie wird wiederholt von apikal in Richtung auf die Zahnkrone geführt und dabei abwechselnd vertikal, schräg und horizontal gehalten, bis eine glatte, glasartige Wurzeloberfläche entstanden ist. Exzessive Wurzelglättung ist zu vermeiden, da hierdurch der Zement geschädigt werden könnte (DeBowes, 1998).

Die subgingivale Kürettage wird meist bei der Wurzelglättung automatisch mitdurchgeführt, da beim Ansetzen der Kürette an der Wurzel die gegenüberliegende Seite in der Regel Kontakt zum Epithel hat. So wird die oberflächliche Epithelschicht mitentfernt. Dadurch wird erkranktes Gewebe entfernt und ein Heilungsprozess kann schneller eintreten (Eisner, 1989).

Im Anschluss an das Scaling (mechanisch oder von Hand) sollten die Zähne in jedem Fall poliert werden. Für die korrekte Zahnpolitur wird ein Winkelstück mit Gummipolierer sowie Polierpaste verwendet. Der Gummipolierer wird mit der Paste gefüllt und mit leichtem Druck auf den Zahn aufgesetzt. Die Politur selbst erfolgt bei niedriger Umdrehungszahl. Der ausgeübte Druck sollte so bemessen sein, dass der becherförmige Polierer etwas abgeflacht wird. Bei der Politur entsteht Hitze, so dass zur Vermeidung einer Schädigung der Pulpa für maximal 10 bis 15 Sekunden an einem Zahn gearbeitet werden darf. Anschließend wird überschüssige Polierpaste durch Spülen aus der Maulhöhle entfernt (DeBowes, 1998; Pollmeier, 1994).

Stark wulstig geschwollene Gingiva sollte in einem Winkel von 30 – 40 Grad entfernt werden. Dadurch wird ein möglichst physiologischer Zahnfleischersatz erzielt, der das Abgleiten der Nahrung begünstigt und die Ansammlung von faulenden Futterresten und bakteriellen Belägen im kritischen Zahnhalsbereich verzögert (Eisenmenger und Zetner, 1985; Eisner, 1989). Dieses als Gingivoplastik bezeichnete Verfahren kann mittels speziellen Skalpellen, Radio- oder Elektrochirurgiegeräten durchgeführt werden (Zetner, 2001).

Zahnfleischtaschen werden auf ähnliche Weise mittels Radio- oder Elektrochirurgie entfernt. Bei der sogenannten Gingivektomie sollte die Tasche in toto entfernt werden. 2 mm der befestigten Gingiva sollten aber mindestens bestehen bleiben (Hawkins, 1986; Tholen, 1983). Die dabei freigelegte Wurzeloberfläche muss mit einem Gummipolierer unter Wasserkühlung poliert werden.

Lockere Zähne sollten extrahiert werden. Die Zahnextraktion kann mit speziellen Wurzelhebern für die Katze erfolgen (Zetner, 2001).

## **4.2 Prophylaxemaßnahmen**

### **4.2.1 Bisher angewandte Prophylaxemaßnahmen bei der Katze**

Die gesunde Gingiva bei einem jungen Tier oder der durch Therapiemaßnahmen erreichte Gesundheitszustand der Gingiva bei einer älteren Katze, sollte durch Prophylaxemaßnahmen erhalten werden. Die Gingiva kann vor allem durch Entfernung oder Reduktion der akkumulierten Plaque geschützt werden (Gorrel, 2001).

#### **4.2.1.1 Prophylaxemaßnahmen durch den Tierarzt**

Die regelmäßige Plaque- und Zahnsteinentfernung mit Zahnpolitur und lokaler Gingivabehandlung durch den Tierarzt wird nicht nur als Therapie- sondern auch als Prophylaxemaßnahme angewandt. Sie sollte eine primäre Rolle in der Tierarztpraxis spielen und alle sechs Monate zur Erhaltung der Mundhygiene durchgeführt werden. Bei fortgeschrittenen Parodontalerkrankungen wird eine Fluoridbehandlung durch den Tierarzt nach der Zahnsteinentfernung und der Politur empfohlen. Fluorverbindungen härten nicht nur die Zahnoberfläche, sondern wirken auch prophylaktisch gegen die Anheftung und Kolonisierung der Plaquebak-

terien an der Zahnoberfläche. Als Gel aufgebracht hält die Wirkung von Fluor sogar für ca. 6 Wochen an (Dobrescu, 1997; Eisner, 1989).

Es sollte auch eine Aufklärung des Tierbesitzers über die Pathophysiologie parodontaler Erkrankungen und darüber welche Form der Plaquekontrolle zur Gesunderhaltung der Zähne und des Zahnfleisches geeignet ist, erfolgen (Auvil, 2002; Logan, 1998c).

#### **4.2.1.2 Prophylaxemaßnahmen durch den Tierbesitzer**

Obwohl die Veterinär-Zahnmedizin in den letzten Jahren eindrucksvolle Fortschritte gemacht hat, wissen viele Tierbesitzer nicht, dass sie selbst aktiv einen großen Beitrag für die Zahngesundheit ihres Tieres leisten können und unterschätzen, welche Bedeutung der Plaquekontrolle hierbei zukommt (Logan, 1998c). Dabei können eine Reihe verschiedener Maßnahmen, die geeignet sind, Plaquebildung zu verhindern, vom Tierbesitzer zu Hause angewandt werden. Plaque kann durch mechanische Maßnahmen wie etwa Zähneputzen und zahnreinigendes Futter sowie durch chemische Mittel wie z.B. Chlorhexidin, Zinkascorbatlösung und enzymatisch wirkende Zahnpasta verhindert werden (Logan, 1998a).

Von den genannten Maßnahmen ist das regelmäßige Zähneputzen die einfachste und effektivste Methode, Plaque von der Zahnoberfläche dauerhaft zu entfernen. Die Tiere sollten schon jung an das Putzen gewöhnt werden, da dies bei älteren Tieren meist nur noch schwer möglich ist (Eisenmenger und Zetner, 1982; Gengler, 2002). Der Besitzer sollte zunächst damit beginnen über das Maul der Katze von rostral nach kaudal mit einem Finger zu streichen. Dann kann die Lippe des Tieres angehoben werden und versucht werden in ähnlicher Weise über das Zahnfleisch zu streichen. Akzeptiert die Katze dieses, kann mit etwas Gaze, die um den Finger gewickelt wurde, das Abreiben von Plaque und das Massieren des Zahnfleisches begonnen werden. Hat sich die Katze an diese Vorgänge gewöhnt, kann zu einer Zahnbürste gewechselt werden (Eisner, 2003). Durch das Bürsten werden Schmutz und Beläge entfernt und zusätzlich die Zahnfleischdurchblutung gefördert. Die Bürste sollte weich und der Größe des Katzenmauls angepasst sein (Gorrel, 2000). Es stehen verschiedene Zahnpasten mit abrasiven oder antibakteriellen Inhaltsstoffen zur Verfügung. Dem Tierbesitzer sollte erklärt werden, wie die Zahnbürste angewendet wird: mit horizontalen Bewegungen werden die Prämolaren im Ober- und Unterkiefer geputzt, mit vertikalen Auf- und Abwärtsbewegungen werden die Incisivi und die Molaren gebürstet (Eisner, 1989). Am besten ist tägliches Zähneputzen, bei gesundem Zahnfleisch reicht es aber auch drei mal in der Woche Zähne zu putzen (Gorrel, 1998; Tromp et al., 1986).

Bei Tieren, bei denen das Zähneputzen kaum oder nicht möglich ist, kann z.B. auch Chlorhexidin als eine der potentesten antimikrobiellen Substanzen verwendet werden. Es tötet aerobe und anaerobe Keime ab, indem es die Lipoproteine der Bakterienzellwand depolarisiert, ins Zytoplasma der Mikroben eindringt und dort die Proteine präzipitiert. Nach Zetner (1994) sind bis heute keine Resistenzen gegen Chlorhexidin bekannt. Am besten hat sich der Einsatz in Gelform bewährt. Dieses ist wasserunlöslich, so dass Chlorhexidinmoleküle noch Stunden nach einmaliger Applikation an Zähnen und Zahnfleisch haften. Das Gel sollte einmal täglich durch den Tierbesitzer auf Zähne und Zahnfleisch appliziert und mit der Fingerkuppe verteilt werden. Einziger Nachteil dieses Präparats ist die nach längerer Anwendung sichtbare Braunverfärbung der Zahnoberflächen, die sich allerdings sowohl mit einem Zahnsteinentfernungsgerät als auch mit dem Polierer rückstandslos entfernen lassen (Robinson, 1995).

Sehr wichtig zur Vermeidung parodontaler Erkrankungen ist auch eine abwechslungsreiche Ernährung vorwiegend mit Trockenfutter. Dieses regt durch das längere Kauen die Bildung eines flüssigen und muzinarmen Speichels an. Speichel hat eine spülende Wirkung und enthält zahlreiche antimikrobiell wirksame Substanzen (siehe auch Kapitel B 2.1). Zudem hat Trockenfutter durch seine Textur einen gewissen abrasiven Effekt (Gorrel, 2001; Watson, 1994). BOYCE zeigte 1986, dass die Zahnsteinbildung bei Katzen, die sich von Trockenfutter ernährten, geringer war als bei Katzen, die Nassfutter bekamen. Zahlreiche weitere Studien bestätigen diesen Effekt (Logan, 1998b; Watson, 1994). Die zahnreinigende Wirkung der üblichen Trockenfutter bieten zwar im Vergleich zu Nassfutter einen reinigenden Effekt, diese Wirkung ist jedoch noch nicht optimal (Boyce und Logan, 1994). Zur Gesunderhaltung der Zähne sind deshalb spezielle Diätfutter besser geeignet. Diese Diätfutter weisen z.B. eine spezielle Futtermatrix auf, wodurch beim Fressen ein verstärkter Kontakt mit der Zahnoberfläche entsteht. Dadurch kann Zahnbelag, Zahnsteinbildung und Gingivitis wirksam vermindert werden (Jensen et al., 1995; Logan, 1995). Auch die täglich zusätzliche Gabe von Kaumaterialien können eine reduzierte Plaque- und Zahnsteinbildung bewirken (Gorrel et al., 1998; Ingham et al., 2002). Allerdings sollte bei allen Kaumaterialien für Katzen beachtet werden, dass Katzenzähne vor allem zum Beißen und Zerreißen der Nahrung geschaffen sind und nicht zum Kauen.

Die tägliche Gabe eines zahnreinigenden Futters ist eine ausgezeichnete Massnahme, um Plaquebildung zu verringern. Sie bietet den Tierbesitzern, die nicht in der Lage sind, ihrem Tier die Zähne zu bürsten eine bequeme und effektive Methode zur Oralhygiene (Logan, 1998c).

Insgesamt sollte ein Zahnpflegethema sowohl für den Besitzer (Engagement und Fähigkeit im Umgang mit dem Tier) als auch für die Katze (Verhalten, Zahnerkrankungen, vorausgehende zahnmedizinische Versorgung) maßgeschneidert sein. Nur so kann eine adäquate Plaqueprophylaxe sichergestellt werden. Dem Tierbesitzer muß bewusst sein, dass die Zahnpflege zuhause nur einen Teil der Gesundheitsprophylaxe darstellt und die tierärztliche Kontrolle der Maulhöhle dazu beiträgt, den richtigen Zeitpunkt für die nächste professionelle Zahnbehandlung zu bestimmen (Logan, 1998a).

## **4.2.2 Neue Substanzen in der Prophylaxe**

In der Human-Zahnmedizin sind zahlreiche chemische Mittel zur Verminderung der Plaquebildung und zur Plaquekontrolle im Einsatz (Gaffar et al., 1997). Viele dieser Substanzen werden auch in der Veterinär-Zahnmedizin eingesetzt. Für die Substanzen Vitamin C, Epigallocatechingallat (EGCG) und Lactoferrin (LF) liegen in Bezug auf die Mundhöhle des Menschen zahlreiche Studien vor. Der Einfluss von EGCG und Lactoferrin auf die Maulhöhle der Katze wurde 2004 von GORRISEN getestet. Vitamin C wurde allerdings bislang bei der Katze zur Reduzierung der Plaque nur in Form eines Zink-Ascorbat-Gels eingesetzt (Clarke, 2001).

Im Folgenden werden die Substanzen Vitamin C, EGCG und Lactoferrin näher beschrieben.

### **4.2.2.1 Vitamin C**

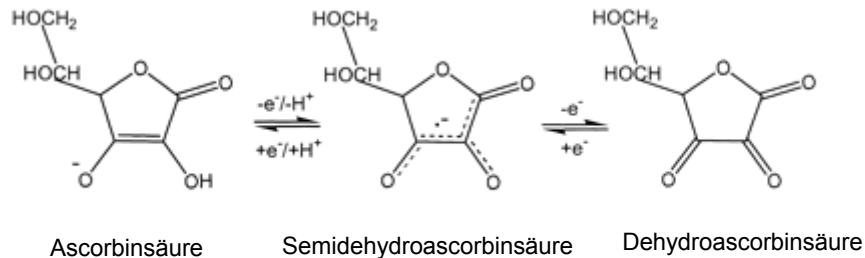
#### **4.2.2.1.1 Chemische Struktur und Nomenklatur**

Vitamin C ist der Gattungsname für alle Verbindungen mit qualitativ der gleichen biologischen Wirkung wie L(+)-Ascorbinsäure (= 2,3-Endiol-L-Gluconsäure- $\gamma$ -Lacton).

Die Stereoisomere wie D-Ascorbinsäure und L-Isoascorbinsäure sind biologisch inaktiv, nur D-Isoascorbinsäure hat noch geringe biologische Aktivität (McDowell, 2000).

Ascorbinsäure ist leicht oxidierbar und daher ein starkes Reduktionsmittel. Unter schonenden Bedingungen führt ihre Oxidation über die radikalische Zwischenstufe (Semidehydroascorbinsäure) zur Dehydroascorbinsäure (Abbildung 7). Die oxidierte Form der Ascorbinsäure er-

langt ebenfalls die volle biologische Wirkung, da sie im Organismus wieder zu Ascorbinsäure reduziert werden kann (Carr und Frei, 1999).



**Abbildung 7: Ascorbinsäure als Redoxsystem: Ascorbinsäure (reduzierte Form), Semidehydroascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure (oxidierte Form) (Carr, 1999)**

Der Name Ascorbinsäure leitet sich von den antiskorbutischen und sauren Eigenschaften der Verbindung ab (Karlson et al., 1994).

#### 4.2.2.1.2 Eigensynthese und Bedarf

Die Katze ist wie die meisten Tiere in der Lage, L-Ascorbinsäure auf enzymatischem Weg aus Glucose und Galaktose in der Leber selbst zu synthetisieren. Dem Mensch, anderen Primaten, dem Meerschweinchen fehlt dagegen das für die Synthese der L-Ascorbinsäure entscheidende Enzym L-Gulonolacton-Oxidase. Für diese Spezies ist Vitamin C ein essentieller Bestandteil der Nahrung (McDowell, 2000).

Die Katze kann ihren Bedarf über die Eigensynthese decken (NRC, 1986). Die Intensität der Synthese ist bei Hund und Katze in etwa gleich. Im Vergleich zu anderen Tieren, wie z.B. Ratte und Maus, die sieben mal so viel Vitamin C synthetisieren wie Hund und Katze, ist sie relativ gering (Chatterjee et al., 1975).

Der Bedarf an Vitamin C kann bei der Katze unter bestimmten Umständen stark ansteigen. Durch Stress, Angst, hohe Leistungsanforderungen und Erkrankungen erhöht sich der metabolische Bedarf und die Syntheseleistung geht zurück. Unter diesen Bedingungen sollte eine Supplementierung mit Vitamin C stattfinden (Kolb und Seehawer, 1997).

#### 4.2.2.1.3 Ascorbinsäure im Organismus

Vitamin C-abhängige Spezies absorbieren Ascorbinsäure über einen aktiven, natriumabhängigen und sättigbaren Mechanismus. Beim Menschen wird Ascorbinsäure hauptsächlich über die distalen Abschnitte des Dünndarm aufgenommen, aber auch über den Mund, den Magen und über die proximalen Abschnitte des Dünndarms werden kleinere Mengen absorbiert (Moser und Bendich, 1991). Bevorzugt wird die oxidierte Form der Ascorbinsäure aufgenommen, aber auch die reduzierte Form wird absorbiert (Goldenberg und Schweinzer, 1994). Bei den Vitamin C-unabhängige Spezies wird ein anderer Absorptionsprozess für Ascorbinsäure angenommen. Er scheint durch einfache Diffusion stattzufinden (McDowell, 2000). Die faecale Ausscheidung von Ascorbinsäure ist sehr gering., da nichtresorbierte Ascorbinsäure im Dickdarm hauptsächlich zu CO<sub>2</sub> und organischen Säuren abgebaut wird (Goldenberg und Schweinzer, 1994).

Nach oraler Verabreichung von Ascorbinsäure kommt es dosisabhängig zu einem Anstieg des Ascorbinsäuregehalts im Plasma. Maximalwerte lassen sich bei der Katze etwa 2 bis 4 Stunden nach der Fütterung im Plasma messen. Bei nüchternen Katzen liegt der Ascorbinsäuregehalt zwischen 1,6 und 4,7 µg/ml Plasma (Maiwald, 1994).

Im Blut liegt Vitamin C als freies Anion vor oder es wird reversibel an Serumalbumine gebunden und zu den verschiedenen Organen transportiert. Besonders reich an Vitamin C sind z.B. Hypophyse, Nebenniere, Pankreas, Augenlinse, Thymus und die Leber, wobei der Leber durch ihre Synthesefähigkeit von Vitamin C bei einigen Säugetieren eine besondere Bedeutung zukommt (Hornig, 1975; Molloy und Wilson, 1980). In die Organe gelangt Vitamin C abhängig vom jeweiligen Gewebe durch die Kopplung an Carrier oder möglicherweise durch einen natrium- und/oder insulinabhängigen Transportmechanismus (Vera et al., 1993).

Da Vitamin C im Blut zum Teil in freier Form zirkuliert, wird es in der Niere glomerulär filtriert, und um renale Verluste zu vermeiden, anschließend wieder tubulär reabsorbiert. Dieser Mechanismus ist carriervermittelt und natriumabhängig und bei allen Spezies vorhanden. Die Ausscheidung richtet sich nach der Sättigung des Organismus. Erst nach Absättigung der Gewebe tritt überschüssige Ascorbinsäure in den Harn über (McDowell, 2000; Toggenburger et al., 1981).

In seltenen Fällen und meist erst bei hohen Dosen, können Magenschmerzen oder Durchfall (ca. 1g/Tag) auftreten. In einer Studie von Maiwald (1994) reagierten Katzen auf die Gabe von phosphorilierter Ascorbinsäure in Dosen von 100 mg / kg KM und Tag mit Anzeichen ei-



ner Schleimhautreizung (Speicheln). Für andere gesundheitsschädigende Wirkungen - selbst bei großen Dosen Vitamin C - gibt es bis heute keine Anhaltspunkte (Bützer, 2004).

#### 4.2.2.1.4 Funktionen der Ascorbinsäure

Ascorbinsäure hat viele Aufgaben im Körper. Ihre Funktion beruht auf der Fähigkeit, ein oder zwei Elektronen entweder an Metallionen oder innerhalb von Redoxsystemen abzugeben (Moser und Bendich, 1991).

Die Aktivität vieler Enzyme ist ascorbinsäure-abhängig. Enzyme wie Hydroxylasen, die für die Hydroxylierung des Prolins und Lysins in der Prokollagenbiosynthese verantwortlich sind, benötigen Ascorbinsäure als Reduktionsmittel. Damit ist Ascorbinsäure ein bedeutender Faktor in der Kollagensynthese. Eine längerfristige Unterversorgung des Organismus führt daher zu Störungen im Kollagenstoffwechsel (Karlson et al., 1994).

Neben den Hydroxylasen ist die Ascorbinsäure für zahlreiche andere Enzyme von Bedeutung und an der Synthese von Carnitin, Katecholaminen (Adrenalin und Noradrenalin) und anderen Hormonen (Peptidhormone und Neuropeptide) beteiligt (Kolb und Seehawer, 1997).

Ascorbinsäure ist außerdem für die Ausreifung und Funktion der weiblichen und männlichen Keimzellen notwendig (Chinoy et al., 1986; Luck und Zhao, 1993). Auch die Differenzierung von Mesenchymzellen zu Myeloblasten, Chondrozyten und Osteoblasten wird durch die Ascorbinsäure stimuliert (Franceschi, 1992).

Ferner übt Ascorbinsäure einen stimulierenden Effekt auf die Phagozytoseaktivität der Leukozyten aus. Deshalb wird Ascorbinsäure besonders bei Krankheit benötigt, da sie bei der Aktivierung und der Tätigkeit der weissen Blutkörperchen vermehrt verbraucht wird (Anderson, 1982; Banic, 1982).

Als nicht-enzymatisches Reduktionsmittel begünstigt sie die Eisenresorption (Bendich und Cohen, 1990) und ist zudem an der Erhaltung der Vitamin E (Tocopherol)-Konzentration beteiligt, indem sie Tocopherolradikale zu Tocopherol reduziert (Halliwell, 1994; Keith, 1989). Sie ist im Sinne eines antioxidativen Schutzfaktors tätig, indem sie als Redoxsystem in den löslichen Bestandteilen der Zelle entstandene Radikale (z.B. Superoxidationen, Hydroxylradikale) beseitigt. Neben Zystein, Glutathion und Harnsäure stellt Vitamin C dabei eines der wesentlichen wasserlöslichen Antioxidantien dar, während in der lipophilen Phase Vitamin E sauerstoffbildende Radikale z.B. in der Zellmembran abfangen kann (Carr und Frei, 1999; Schmidt, 1997).

Eine bakterizide Wirkung erreicht die Ascorbinsäure über ihre Oxidation durch Cu-Ionen und die Bildung von Wasserstoffperoxyd. Dehydroascorbinsäure und anderen Oxidationsproduk-

ten der Ascorbinsäure werden zudem toxische Eigenschaften nachgesagt (Mackey und Seymour, 1989).

Eine weitere wichtige Wirkung, die der Ascorbinsäure zugeschrieben wird, ist ihr möglicher anticancerogener Einfluss. Zahlreiche Ergebnisse der Grundlagenforschung weisen auf eine mögliche Bedeutung von Vitamin C bei der Tumorphylaxe hin. Zu nennen ist in erster Linie eine Inhibierung der Nitrosaminbildung, eine Reduzierung der mutagenen Potentiale im Stuhl, die antioxidative Wirkung und die direkten Effekte auf das Immunsystem (Cameron, 1982; Dion et al., 1982).

#### **4.2.2.1.5 Ascorbinsäure in der zahnmedizinischen Prophylaxe**

Kollagen ist der wichtigste Bestandteil des Bindegewebes und das Protein, das die organische Grundsubstanz von Knochen und Dentin darstellt (Eastoe, 1963; Karlson et al., 1994). Ascorbinsäure scheint für die Mineraleinlagerung sowohl im Dentin als auch im Schmelz notwendig zu sein (Hemrika-Wagner et al., 1982). Durch ihre Bedeutung im Kollagenstoffwechsel und den Schutz der Gingiva vor Infektionen ist die Ascorbinsäure als ein wichtiger Faktor in der zahnmedizinischen Prophylaxe anzusehen (Rubinoff et al., 1989).

Es existieren zahlreiche Studien zu humanmedizinischen Zwecken zum Einfluss von Ascorbinsäure bzw. deren Mangel auf die Gingiva, die Zähne und den Knochen. Bei Ascorbinsäuremangel kommt es zu Ödemen in der Gingiva, Gingivitis, Kollagendegeneration, Blutungen, abnehmender Mineralisierung des Alveolarknochens und zur Lockerung der Zähne. In Fällen von subklinischem Ascorbinsäuremangel wird die Funktion der Makrophagen beeinträchtigt (Dreizen et al., 1969; Schow, 1966).

Es existieren einige Studien, die eine negative Korrelation von Vitamin C und parodontaler Gesundheit beim Mensch beschreiben. Nach Rubinoff et al. (1989) sind diese Ergebnisse allerdings auf ein mangelhaftes Studiendesign zurückzuführen.

Andere Studien zeigen folgende Beobachtungen nach Vitamin C-Supplementierung:

- erhöhter Gehalt an Prolin und Hydroxyprolin in der Gingiva
- Abnahme gingivaler Blutungen
- erhöhte Anzahl kollagenproduzierender Fibroblasten
- vermehrte Bildung weißer Blutzellen
- erhöhtes epitheliales Attachment

Obwohl die Dosierungen an Vitamin C teilweise sehr hoch gewählt sind, zeigen sich auch bei diesen Studien keine signifikanten klinischen Veränderungen der Gingiva (Woolfe et al., 1984). Die Ergebnisse weisen aber darauf hin, dass durch Ascorbinsäure die frühen Gingivi-

tis-Stadien und die Blutungsbereitschaft der Gingiva verzögert und damit positiv beeinflusst werden können (Jacob et al., 1987; Leggott et al., 1986).

In einer 1991 von Goldschmidt an Affen durchgeführten Studie werden die antibakteriellen Eigenschaften von Ascorbinsäure in vitro und in vivo anhand von *Actinomyces viscosus* aufgezeigt. Ascorbinsäure hemmt das Bakterienwachstum in vitro und führte in vivo zu stark reduzierter Plaqueakkumulation .

Ascorbinsäure wird auch schon in Zahnpasten eingesetzt (Trykowski et al., 1994). Innerhalb kurzer Zeit tritt allerdings beim Einsatz von freier Ascorbinsäure eine braune Verfärbung der Zahnpasta auf. Aus Stabilitätsgründen müsste der pH-Wert niedrig sein, wenn freie Ascorbinsäure in der Zahnpasta enthalten ist. Saure Zahnpasta würde allerdings zu einer Demineralisation der Schmelzschicht der Zähne führen. Aus diesen Gründen bleibt der Einsatz freier Ascorbinsäure in Zahnpasten beschränkt. Besser ist deshalb der Einsatz einer stabilen Form der Ascorbinsäure wie etwa Natrium Ascorbyl Phosphat. Um in der Mundhöhle aktiv zu werden, muss dieses Provitamin durch die in der Mukosa befindlichen Phosphatasen zu Ascorbinsäure umgewandelt werden, besitzt dann aber alle Funktionen und Vorteile von freier Ascorbinsäure (Girard und Saecker, 2002).

Bei der Katze wurde Ascorbinsäure bislang nur in Kombination mit Zink angewandt, um klinische und mikrobielle Veränderungen innerhalb der Maulhöhle der Tiere durch diese Substanzen zu untersuchen. Das angewandte Zinkascorbat-Gel bewirkte sowohl eine Reduzierung des bakteriellen Wachstums als auch eine verminderte Plaque- und Gingivitisbildung. Allerdings wird in dieser Studie nicht geklärt, ob der beobachtete Effekt durch Zink oder durch Ascorbinsäure zustande kommt (Clarke, 2001).

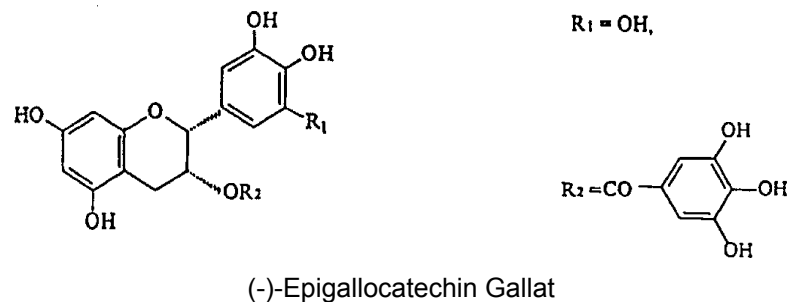
Insgesamt gibt es viele Hinweise auf eine positive Wirkung von Vitamin C auf die Zahngesundheit. Um allerdings definitive Aussagen treffen zu können, sind weitere Studien nötig.

#### **4.2.2.2 Epigallocatechin Gallat (EGCG)**

##### **4.2.2.2.1 Chemische Struktur und Ursprung**

EGCG gehört zur Gruppe der Catechine, einer hochwirksamen Unterklasse der Bioflavonoide. Alle Flavonoide basieren auf einer 2-Phenyl-benzopyran-Struktur. Am B-Ring besitzt

EGCG drei Hydroxylgruppen und am Pyran-Ring ein verestertes Gallat (Abbildung 8) (Graham, 1992).



**Abbildung 8:** Strukturformel von (-)-Epigallocatechin Gallat (EGCG) (Sakanaka et al., 1996)

EGCG wird neben anderen Polyphenolen wie (+)-Catechin (C), (-)- Epicatechin (EC), (-)- Epigallocatechin (EGC) und (-)- Epicatechin Gallate (ECG) als hauptsächliche bioaktive Komponente aus den Blättern des grünen Tees (*Camellia senensis*) gewonnen (Sakanaka et al., 1996).

#### 4.2.2.2 Epigallocatechin Gallat im Organismus

Zur Absorption und Verteilung von EGCG im Organismus existieren kaum Studien. Möglicherweise sind diese Vorgänge zwischen verschiedenen Spezies unterschiedlich (Frei und Higdon, 2003). Es scheint eine intestinale, sättigbare Absorption vorzuliegen. Die Organe mit der höchsten Konzentration an EGCG nach oraler Applikation sind Ösophagus und Darm, also die Organe, die direkten Kontakt mit dem Catechin haben. Im Plasma können die höchsten Werte nach etwa 1,4 bis 2,4 Stunden gemessen werden (Yang et al., 1999). Höhere Konzentrationen als im Plasma können schon innerhalb von Minuten nach oraler Aufnahmen von EGCG im Speichel gemessen werden. Möglicherweise binden sich die Catechine an die Mundschleimhaut und werden anschließend vom Speichel gelöst (Gorrisen, 2004).

Die Elimination von EGCG aus dem Körper erfolgt in erster Linie über die Galle, aber auch in geringerem Maß über die Faeces und über den Abbau durch die im Darm befindlichen Bakterien. Wasserlösliche Metaboliten können über den Harn ausgeschieden werden (Hollman et al., 1997).

Beim Menschen stellten sich Dosen von 800 mg EGCG pro Tag über einen längeren Zeitraum als unbedenklich heraus (Chow et al., 2003). Für Mäuse liegt die letale Dosis bei 3 bis 5 g EGCG pro kg (Frauen, 2001).

#### 4.2.2.2.3 Wirkungen von Epigallocatechin Gallat

Für EGCG wurde in verschiedenen Studien eine Reihe von Wirkungen gefunden, die für die Anwendung bei Mensch und Tier überaus interessant sind. EGCG hat bereits in geringen Dosen einen vasorelaxierenden Effekt, wirkt antithrombotisch und senkt die Cholesterolaufnahme (Huang et al., 1998; Raederstorff et al., 2003). Wie alle Bioflavonoide hemmt es die Oxidation von LDL's und schützt so vor der Entstehung atherosklerotischer Plaques (Osada et al., 2001). EGCG senkt dosisabhängig den Blutglukosespiegel, hemmt die Insulinsekretion, vermindert die Glukoseresorption und weist damit eine antidiabetische Wirkung auf. Zudem übt es einen antiallergenen Effekt u.a. über die Hemmung der Freisetzung von Histamin aus und hat eine stark antioxidative Wirkung, indem es als Radikalfänger fungiert (Dufresne und Farnworth, 2001; Ohmori et al., 1995).

Viele Studien beschäftigen sich mit den antikanzerogenen Eigenschaften von EGCG. Das Enzym Guinioxidase wird bei gesunden Zellen nur bei der Zellteilung exprimiert. Tumorzellen exprimieren dieses Enzym dagegen ständig und steuern darüber ihr Wachstum. EGCG kann dieses Enzym hemmen und dadurch den Zelltod induzieren. Zu den antikanzerogenen Mechanismen zählen außer diesem Effekt vor allem auch die Hemmung der Angiogenese, wodurch Tumorwachstum und Metastasierung von mehreren Seiten eingeschränkt werden, sowie die Hemmung der TNF- $\alpha$ -Expression und -Freisetzung (Ahmad et al., 1997; Fujiki et al., 1999; Hayatsu et al., 1992).

Neuere Studien belegen, dass EGCG das Immunsystem nachhaltig moduliert und über ein hohes antivirales Potenzial verfügt (Metz, 2000). Neben der antiviralen hat EGCG auch eine bedeutende antibakterielle Wirkung. Letztere lässt sich zum einen durch die Hemmung bakterieller Enzyme und zum anderen durch Veränderungen in der Lipidmembran durch EGCG erklären. Zudem verhindert EGCG die Adhäsion verschiedener Bakterien an Gewebezellen, so dass diese sich dort nicht manifestieren und vermehren können. Über die Hemmung der Bildung von  $\beta$ -Lactamasen bewirkt EGCG, dass bisher vorliegende Resistenzen bestimmter Bakterien gegen  $\beta$ -Lactam-Antibiotika unwirksam werden (Sakanaka et al., 1996; Tsuchiya, 2001; Zhao et al., 2003).

Über die hier kurz beschriebenen antibakteriellen Effekte und die Ergebnisse der neuesten Studien zu EGCG gibt die Arbeit von Gorrissen (2004) einen ausführlichen Überblick.

#### 4.2.2.2.4 Epigallocatechin Gallat in der zahnmedizinischen Prophylaxe

Über die antibakterielle Wirkung von EGCG lässt sich auch die verminderte Plaque- und Kariesbildung nach oraler Einnahme bereits geringer Mengen EGCG erklären (Liu und Chi, 2000; Otake et al., 1991).

Krahwinkel und Willershausen wiesen 2000 in einer humanmedizinischen Studie nach, dass EGCG über vier Wochen mehrmals täglich als Kaubonbon angewandt auch eine deutliche Verringerung des Plaque- und des Sulcus-Blutungs-Index bei den Testpersonen bewirkte .

Der Einfluss von EGCG auf verschiedene Maulhöhlenparameter sowie auf die bakterielle Flora der Maulhöhle der Katze wurde von Gorrissen (2004) untersucht. Das Catechin wurde in dieser Studie auf Trockenfutter aufgebracht und konnte so den Katzen täglich über vier Wochen zugeführt werden. Auf die Bakterien der Maulhöhle konnte kein Einfluss festgestellt werden, aber bei den Maulhöhlenparametern ergaben sich tendenziell Verbesserungen.

#### 4.2.2.3 Lactoferrin (LF)

##### 4.2.2.2.5 Chemie und Biochemie

Lactoferrin (LF) ist ein Glykoprotein, das der Transferrin-Familie zugeordnet wird. Es besitzt die Fähigkeit Eisen zu binden und freizusetzen. Seine einsträngige Polypeptidkette ist zu zwei homologen Lappen gefaltet, die sich wiederum in zwei Domänen teilen. Zwischen diesen Domänen kann jeweils ein dreiwertiges Eisenion ( $\text{Fe}^{3+}$ ) in Gegenwart eines Bicarbonations gebunden werden und bei pH-Werten kleiner 4 oder durch Reduktion zum zweiwertigen Eisenion wieder abgegeben werden (Naidu, 2000).

##### 4.2.2.2.6 Lactoferrin im Organismus

LF entsteht im Organismus in den exokrinen Drüsen des Respirations-, Digestions- und Reproduktionstraktes. Es gelangt dann z.B. mit dem Bronchialschleim, dem Speichel oder dem Vaginalsekrete auf die jeweilige Schleimhautoberfläche. Auch in den polymorphkernigen, neutrophilen Leukozyten (PMN) befindet sich LF, das in den Granula gespeichert ist und bei

der Degranulation freigesetzt wird. Dadurch gelangt LF bei Erkrankungen vermehrt ins Plasma (Brock, 2002; Naidu, 2000).

Das im Plasma befindliche LF wird in der Leber abgebaut und über die Galle ausgeschieden (Mc Abee und Esbensen, 1993).

LF scheint bei Substitution - selbst in hohen Dosierungen - nicht toxisch zu sein (Yamauchi et al., 2000).

#### **4.2.2.2.7 Funktionen von Lactoferrin**

In erster Linie ist LF eine wichtige Komponente der unspezifischen Immunantwort und ist an vielen physiologischen Vorgängen im Organismus beteiligt. Die Arbeiten von Laur (2003) und Schwarzer (2004) geben Übersichten über die Funktionen des LF - wie etwa Eisenmetabolismus, Modulation von Entzündungsprozessen, antioxidative, antikanzerogene, antiallergene und antimikrobielle Wirkungen.

In der Dissertation von Gorrissen (2004) werden die antimikrobiellen Wirkungen von LF näher beschrieben. Es wird auf die antiviralen, antifungalen und vor allem auf die antibakteriellen Eigenschaften eingegangen.

#### **4.2.2.2.8 Lactoferrin in der zahnmedizinischen Prophylaxe**

LF wirkt auf *Streptococcus mutans* - eines der nachgewiesenen kariogenen Bakterien in der Mundhöhle - bakteriozid (Arnold et al., 1977) und hemmt dosisabhängig die Adhäsion von *Prevotella intermedia* an Epitheloberflächen. Damit könnte LF ein wichtiger Schutzmechanismus gegen die Ansiedlung des letztgenannten pathogenen Keims, der sich bevorzugt in Zahnfleischtaschen ansiedelt, sein (Alugupalli et al., 1994).

Insgesamt existieren kaum Studien zum Einsatz von LF in der zahnmedizinischen Prophylaxe. In der Humanmedizin wurde LF bisher erfolgreich bei Xerostomie-Patienten eingesetzt (Kirstila et al., 1996). In der Tiermedizin konnte LF bereits mit Erfolg zur Linderung von Stomatiden FIV-infizierter Katzen angewandt werden (Sato et al., 1996). Der Einfluss von LF auf verschiedene Maulhöhlenparameter sowie auf die bakterielle Flora der Maulhöhle der Katze wurde 2004 von Gorrissen untersucht. LF wurde dabei auf Trockenfutter aufgebracht und konnte so den Katzen täglich über vier Wochen zugeführt werden. Auf die Bakterien der Maulhöhle konnte kein Einfluss festgestellt werden, aber bei den Maulhöhlenparametern ergaben sich tendenzielle Verbesserungen. Hauptsächlich Plaque- und Zahnsteinbildung wurden tendenziell beeinflusst.

Exogenes LF ist insgesamt vielversprechend für den Einsatz in der zahnmedizinischen Prophylaxe, birgt aber auch Gefahren, die bei der exogenen Zufuhr bedacht werden sollten. Dazu zählt z.B., dass einige Bakterien wie etwa Neisserien die Fähigkeit haben LF auch als Eisenquelle nutzen. LF könnte dann das Wachstum dieser Keime begünstigen anstatt es zu hemmen (Weinberg, 2001).



## C Material und Methoden

### 1 Versuchsplan

Ziel dieser Studie war es, den Einfluss von Vitamin C und Lactoferrin in Kombination mit Epigallocatechin Gallat (EGCG) auf die Entstehung von Gingivitis, Plaque, Zahnstein und Atemgeruch sowie auf die bakterielle Flora der Maulhöhle - in vivo und in vitro - und den antioxidativen Status bei der Katze zu untersuchen.

Zu diesem Zweck wurde eine verblindete Fütterungsstudie durchgeführt.

### 2 Versuchstiere

Für die Fütterungsstudie standen 18 institutseigene, gesunde männliche und weibliche Katzen auf dem Gelände der Außenstelle Oberwiesenfeld der LMU München zur Verfügung. Es handelte sich um adulte Katzen der Rasse Europäisch Kurzhaar.

Die Tiere wurden in Gruppen von zwei bis fünf Tieren in großen Käfigen gemeinsam gehalten.

Für den Fütterungsversuch wurden die Tiere in zwei nach Alter, Gewicht und Geschlecht möglichst gleiche Gruppen aufgeteilt. Diese Einteilung wurde in allen Versuchsphasen beibehalten.

In Gruppe 1 lag das mittlere Alter bei 4 Jahren mit einer Standardabweichung von einem Jahr. Gruppe 2 war gekennzeichnet durch einen Mittelwert von ebenfalls 4 Jahren und einer Standardabweichung von 2 Jahren.

Für die Gewichtsverteilung wurde bei Gruppe 1 ein Mittelwert von 4,1 kg und eine Standardabweichung von 1,1 kg festgestellt. Bei Gruppe 2 lag der Mittelwert des Gewichts bei 4,4 kg mit einer Standardabweichung von 1,1 kg.

In Tabelle 1 sind die Daten zu den einzelnen Versuchstieren zusammengefasst.

**Tabelle 1: Darstellung von Geschlecht, Alter und Gewicht der Versuchskatzen zu Beginn der Fütterungsstudie**

Gruppe 1				Gruppe 2			
Nr.	Geschlecht	Alter in Jahren	Gewicht in kg	Nr.	Geschlecht	Alter in Jahren	Gewicht in kg
1	m	2,4	3,8	10	m	2,2	4,25
2	m	5,5	4,1	11	m	2,2	3,86
3	w	3,3	2,6	12	m	6,2	5,57
4	w	3,3	2,8	13	mk	8,3	6,20
5	mk	3,3	4,7	14	mk	5,5	5,64
6	w	4,5	4,2	15	w	5,5	3,68
7	mk	6,1	6,1	16	w	4,5	3,81
8	w	4,5	3,4	17	w	2,2	3,23
9	w	6,2	4,8	18	w	2,2	3,56

m = männlich, w = weiblich, mk = männlich-kastriert

Der Entwurmungs- und Impfstatus der Tiere war vor und während des Versuchs auf aktuellem Stand. Der Gesundheitszustand der Katzen wurde während der kompletten Versuchsdauer überwacht, vor und während des Versuchs wurden die Tiere regelmäßig klinisch untersucht.

### 3 Fütterungsstudie

#### 3.1 Beschreibung der Futtermittel hinsichtlich ihrer Rohnährstoffzusammensetzung

Als Grundlage für die eingesetzten Versuchs- und Kontrollfutter diente das Trockenalleinfutter „Happy Cat - Minkas Mix mit gesundem Vollkorn“ (Interquell GmbH, Wehringen).

In Tabelle 2 sind die experimentell bestimmten Gehalte der Rohnährstoffe – Rohprotein, Rohfett, Rohasche, Stickstofffreie Extraktstoffe und Rohfaser – der eingesetzten Futtermittel aufgeführt. Sie wurden nach den Vorschriften der Weender Futtermittelanalyse in der Fassung von Naumann und Bassler (1997) ermittelt.

Trockensubstanz (TS):

Die Probe wurde bei 103°C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Rohasche ( Ra):

Im Muffelofen wurden 5 g des Probenmaterials bei 550°C mindestens acht Stunden lang verascht.

Rohprotein (Rp):

Die Bestimmung erfolgte nach dem Kjeldahlverfahren. Durch konzentrierte Schwefelsäure wurde der in der Probe enthaltene Stickstoff in die Ammoniumform überführt. Nach Zugabe von Natronlauge wurde Ammoniak aus der Probe freigesetzt. Dieser wurde in Borsäure überdestilliert und titrimetrisch erfasst. Da Rohprotein im Mittel 16 % Stickstoff enthält, wurde die ermittelte Stickstoffmenge mit dem Wert 6,25 multipliziert, um die Menge an Rohprotein in der Futterprobe zu erhalten.

Rohfett (Rfe):

3 g des Probenmaterials wurde durch 30-minütiges Kochen mit konzentrierter Schwefelsäure aufgeschlossen. Anschließend wurde die Probe filtriert, gewaschen und getrocknet. Es folgte die 8-stündige Extraktion der Probe mit Petroläther im Soxhletapparat. Nach dem Trocknen wurde das Gewicht des Rohfettes im Extraktionskolben bestimmt.

Rohfaser (Rfa):

In einen Glasiegel mit Filterboden wurde 1 g der Probe eingewogen und durch Waschung mit Azeton entfettet. Anschließend wurde die Probe jeweils 30 Minuten lang mit 1,25 %iger H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und 1,25 %iger NaOH im Fibertec-Hotextreactor<sup>®</sup> (Fa. Tecator) gekocht. Zwischen und nach den Kochphasen wurde die Flüssigkeit abfiltriert und der Rückstand mit heißem Wasser gewaschen. Danach fand im Kaltextraktionsgerät nochmals eine Entfettung des Rückstandes mit Azeton statt.

Der Tiegel mit Inhalt wurde getrocknet, gewogen und eine Stunde im Muffelofen bei 500°C verascht. Nach Abkühlung auf Zimmertemperatur wurde er erneut gewogen. Das Aschegewicht wurde vom Trockengewicht des Filterrückstandes subtrahiert, um den Anteil der Rohfaser zu erhalten.

Stickstofffreie Extraktstoffe (NfE):

Rechnerische Bestimmung nach der Formel:  $NfE = TS - (Ra + Rp + Rfe + Rfa)$

Organische Substanz (oS):

Rechnerische Ermittlung nach der Formel:  $oS = TS - Ra$

**Tabelle 2: Rohnährstoffzusammensetzung von Versuchs- und Kontrollfutter – nach Weender Analyse ermittelt – angegeben in % der ursprünglichen Substanz (uS)**

	Vitamin C-Futter	Kontrollfutter	EGCG-Lactoferrin-Futter
<b>Rohnährstoff</b>	<b>% der uS</b>	<b>% der uS</b>	<b>% der uS</b>
Trockensubstanz	92,5	90,5	89,0
Rohprotein	30,0	30,0	30,0
Rohfett	7,59	6,45	5,91
Rohasche	7,89	7,71	7,39
Stickstofffreie Extraktstoffe	44,8	43,88	43,35
Rohfaser	2,22	2,46	2,35

### 3.2 Beschreibung des Futters hinsichtlich des Gehaltes an Mineral- und Zusatzstoffen

Der Mineralstoffgehalt sowie der Gehalt an Zusatzstoffen wurde aus den Angaben des Herstellers zum Futter bezogen. Die Daten sind in den folgenden Tabellen aufgeführt:

**Tabelle 3: Angaben des Herstellers zum Mineralstoffgehalt in % der uS**

<b>Mineralstoff</b>	<b>% der uS</b>
Natrium	0,5
Phosphor	0,9
Kalzium	1,2

Tabelle 4: Angaben des Herstellers zu den Zusatzstoffen pro kg Futter

Zusatzstoff	Einheit	pro kg Futter
Vitamin A	IE	150000
Vitamin D <sub>3</sub>	IE	15000
Vitamin E	mg	125
Vitamin K	mg	5
Vitamin B <sub>1</sub>	mg	16
Vitamin B <sub>2</sub>	mg	6
Pantothensäure	ng	7,5
Niacin	ng	30
Vitamin B <sub>6</sub>	ng	2,6
Vitamin B <sub>12</sub>	µg	45
Folsäure	mg	1
Cholin	mg	2100
Biotin	µg	225
Eisen	mg	80
Zink	mg	80
Kupfer	mg	8
Mangan	mg	5
Jod	mg	2
Selen	ng	0,15

### 3.3 Beschreibung der Futtermittel hinsichtlich ihrer Wirkstoffgehalte

Die Herstellung des Versuchs- und Kontrollfutters erfolgte durch DSM Nutritional Products (registered as Roche Vitamins Ltd, CH). Auf das ausgewählte Trockenalleinfutter wurde in einer Mischanlage die oberste Schicht (Digest Schicht) aufgesprüht. Für das Versuchsfutter der Vitamin C-Studie wurde der Digest-Schicht eine Menge von 2340 mg Natrium Ascorbyl Monophosphat (STAY-C<sup>®</sup> 50, Roche Vitamins Ltd., CH) / kg Futter zugegeben. Dem Versuchsfutter für die zweite Studie wurden EGCG (TEAVIGO TM, Roche Vitamins Ltd., CH) und Lactoferrin (Formulated LF, Roche Vitamins Ltd., CH) in gleichem Verhältnis zugegeben und zwar in einer Menge von jeweils 300 mg / kg Trockenalleinfutter.

Das Kontrollfutter wurde nur mit der Digest Schicht ohne zusätzliche Wirkstoffe besprüht. Die einzelnen Pellets erhielten dadurch ein einheitliches Aussehen, so dass eine rein optische Unterscheidung von Versuchs- und Kontrollfutter nicht mehr möglich war.

### **3.4 Futterzuteilung und Fütterungstechnik**

Alle verwendeten Versuchsfutter wurden von einer am Versuch unbeteiligten Person in verblindete Papiersäcke abgefüllt und nummeriert.

Die Gabe des Versuchsfutters begann mit Tag 1 und endete mit Tag 27 (Abb. 1).

Die Fütterung erfolgte außer für drei Katzen innerhalb der Käfige zweimal täglich. Drei Tiere mussten zweimal täglich außerhalb der Käfige getrennt von ihrer Gruppe gefüttert werden. Dazu wurden sie einzeln jeweils für mindestens eine halbe Stunde in Einzelboxen untergebracht.

Die Fütterung erfolgte früh zwischen sieben bis neun Uhr und abends zwischen siebzehn bis neunzehn Uhr.

Wasser stand allen Tieren ad libitum zur Verfügung.

Die jeder Katze zugeteilte Futtermenge wurde durch den individuellen Energiebedarf der einzelnen Tiere bestimmt.

Anhand der Untersuchungen zum Energiebedarf von Katzen (Edtstadtler-Pietsch, 2003), von Erfahrungswerten aus früheren Fütterungsstudien mit den selben Katzen, sowie Geschlecht und Gewicht der Versuchskatzen wurde für jedes Tier die Futtermenge am mittleren Energiebedarf orientiert.

Durchschnittlich wurde den Katzen  $0,33 \text{ MJ ME} / \text{kg KM und Tag}$  zugeteilt.

Das Körpergewicht der jeweiligen Katze wurde mit dem Energiebedarf in  $\text{MJ ME} / \text{kg KM}$  multipliziert, um den Energiebedarf pro Katze an einem Tag zu erhalten. Die Futtermenge pro Tag und Katze in g wurde dann mit Hilfe des Energiegehaltes des Futters berechnet. Dieser Energiegehalt betrug  $0,015 \text{ MJ pro Gramm Futter}$ . Der Energiebedarf pro Katze und Tag dividiert durch diesen Wert (Energiegehalt/g Futter) ergab die benötigte Futtermenge pro Katze und Tag.

Da die Fütterung der Katzen zweimal täglich stattfand, wurde die ermittelte Futtermenge pro Tag durch 2 geteilt. So erhielt man die Futtermenge in Gramm pro Mahlzeit. In Tabelle 2 ist der Energiebedarf und die daraus errechnete Futtermenge pro Tag bzw. pro Mahlzeit zum Versuchsbeginn für jede Katze aufgeführt.

**Tabelle 2: Energiebedarf der Versuchstiere und Futtermenge pro Tag bzw. pro Mahlzeit zum Versuchsbeginn**

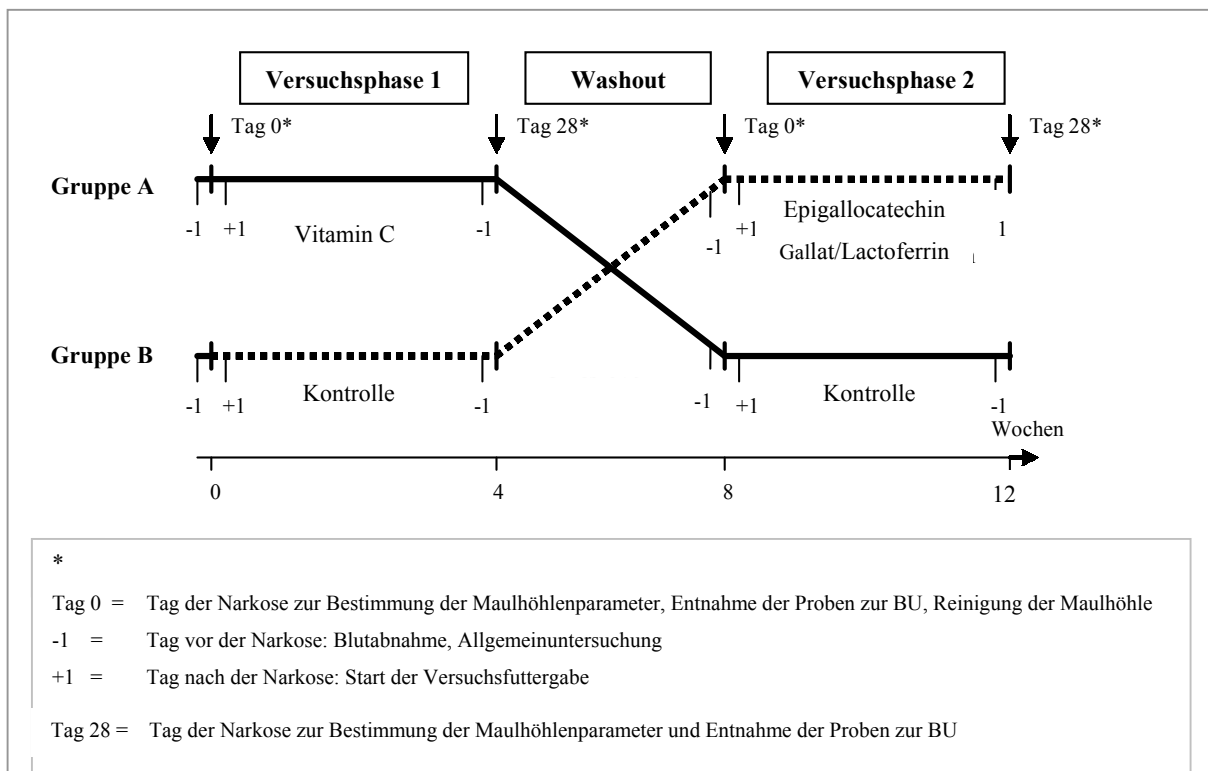
Katze	KM in kg	Energie- bedarf in MJ ME pro Kg KM	Energiebedarf in MJ ME pro Katze (= Gewicht Katze x Energiebedarf)	Energie- gehalt pro g Futter in MJ	Futtermenge in g pro Tag (=Energiebedarf pro Katze / Energiege- halt pro g Futter)	Futtermenge in g pro Mahlzeit (= Futtermenge pro Tag / 2)
1	3,76	0,33	1,24	0,015	82,67	41,34
2	3,75	0,33	1,24	0,015	82,67	41,34
3	2,60	0,33	0,86	0,015	57,34	28,67
4	2,80	0,33	0,92	0,015	61,34	30,67
5	4,60	0,33	1,52	0,015	101,34	50,67
6	4,20	0,33	1,39	0,015	92,67	46,34
7	6,13	0,33	2,02	0,015	134,67	67,34
8	3,40	0,33	1,12	0,015	74,67	37,43
9	4,80	0,33	1,58	0,015	105,34	52,67
10	3,90	0,33	1,29	0,015	86,00	43,00
11	3,86	0,33	1,27	0,015	84,67	42,34
12	5,56	0,33	1,84	0,015	122,67	61,34
13	6,20	0,33	2,05	0,015	136,67	68,34
14	5,60	0,33	1,85	0,015	121,34	60,67
15	3,67	0,33	1,21	0,015	80,67	40,34
16	3,80	0,33	1,25	0,015	83,34	41,67
17	3,22	0,33	1,06	0,015	70,67	35,34
18	3,50	0,33	1,16	0,015	77,34	38,67

Die Tiere wurden während der Versuchsphasen alle zwei Wochen gewogen und bei Gewichtsabweichungen erfolgte wenn nötig eine Anpassung der zugeteilten Futtermenge.

## 4 Versuchsablauf

### 4.1 Dauer der einzelnen Versuchsphasen

Die Fütterungsstudie wurde über einen Zeitraum von insgesamt 12 Wochen durchgeführt. Vier Wochen dauerte die Versuchsphase 1 mit Ascorbyl-Monophosphaten. Es schloss sich eine vierwöchige Washout-Phase an, in der alle Katzen das Kontrollfutter erhielten. Auch die Versuchsphase 2 mit EGCG und Lactoferrin ging über die Dauer von vier Wochen.



**Abbildung 9: Schema zur Dauer der Versuchsphasen, zur Gabe von Versuchs- / Kontrollfutter in den einzelnen Phasen und zum Zeitpunkt der durchgeführten Maßnahmen während des Versuchs**

Die Dauer der einzelnen Versuchsphasen, die Gabe von Versuchs- und Kontrollfutter sowie der Zeitpunkt der durchgeführten Maßnahmen während des Versuchs sind in Abbildung 9 dargestellt.



## **4.2 Gabe von Versuchs- bzw. Kontrollfutter in den einzelnen Versuchsphasen**

Gruppe A erhielt in der ersten Versuchsphase das Vitamin C-Futter, während Gruppe B das Kontrollfutter bekam. Es folgte die wash-out-Phase, in der beide Gruppen nur mit dem Kontrollfutter versorgt wurden. In der anschließenden Versuchsphase 2 mit EGCG und Lactoferrin bekam Gruppe B das Versuchsfutter und Gruppe A weiterhin das Kontrollfutter.

In der Versuchsphase 1, fungierte Gruppe A bis zur ersten Washout-Phase als Versuchsgruppe, Gruppe B diente währenddessen als Kontrollgruppe. In der zweiten Versuchsphase wurde Gruppe B zur Versuchsgruppe und Gruppe A zur Kontrollgruppe.

Abbildung 1 stellt den Versuchsablauf mit den einzelnen Versuchsphasen und der jeweiligen Fütterung von Versuchs- und Kontrollfutter in Gruppe A und B dar.

## **4.3 Untersuchungen und Probenentnahme im Wachzustand**

### **4.3.1 Allgemeinbefinden**

An Tag 0 und Tag 28 wurde unmittelbar vor jeder Anästhesie eine ausführliche Allgemeinuntersuchung bei jeder Katze durchgeführt. Überprüft wurden Haltung, Verhalten, Ernährungszustand, Pflegezustand, Haut und Haarkleid, Temperatur, Schleimhäute, KFZ, Puls, Herzfrequenz, Atemfrequenz, Lnn. mandibularis und Lnn. poplitei und das Abdomen im Hinblick auf die Narkosefähigkeit der Tiere.

### **4.3.2 Blutentnahme**

#### **4.3.2.1 Probengewinnung**

Die Blutentnahme erfolgte in einem vier-wöchigem Rhythmus zu Beginn und am Ende der Versuchsphase 1 und 2. Die Entnahme wurde postprandial ca. 3 Stunden nach der Fütterung durchgeführt.

Das Blut wurde aus der V. saphena medialis mittels einer Einmal-Injektionskanüle der Größe 0,90 x 40 mm BL/LB (Firma B. Braun Melsungen AG, Melsungen) gewonnen. Nach Ausscheren und Desinfektion der Punktionsstelle, wurde das Blutgefäß zur besseren Darstellung vor der Blutentnahme gestaut. Es wurde darauf geachtet, dass die Blutstropfen an der Wand der Einmalgefäße herunterflossen. Während der Blutentnahme wurden die Katzen möglichst

ruhig und stressfrei behandelt. Wenn bereits etwa 1 ml Blut im EDTA-Röhrchen und 2 ml im Plasmaröhrchen gesammelt werden konnte und die Tiere sehr unruhig bei der Blutabnahme wurden, wurde die Blutabnahme abgebrochen und das restliche Blut zur Serumgewinnung wurde dann zu Beginn der Narkose aus der Venenverweilkanüle entnommen.

Für die Serumgewinnung wurden unbeschichtete Plastikröhrchen (4 ml, Sarstedt AG & Co, Nürnberg) mit Plastikkügelchen als spätere Pipettierhilfe verwendet. Zur Plasmagewinnung dienten präparierte Probenröhrchen (2 ml, Sarstedt AG & Co, Nürnberg), die mit Kalium-Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat (K-EDTA) beschichtet waren.

#### 4.3.2.2 Probenaufbereitung und Lagerung

Alle gewonnen Blutproben blieben bei Raumtemperatur mindestens 10 Minuten zur Koagulation stehen.

Die Röhrchen für die Serumgewinnung wurden 10 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert (Heraeus Sepatech<sup>®</sup> Zentrifuge). Der Überstand wurde in 1,5 ml Reaktionsgefäße (Sarstedt AG & Co, Nürnberg) pipetiert. Für die später durchgeführten Messungen wurden folgende Mengen auf die Reaktionsgefäße verteilt:

Vitamin C: 250 µl

Vitamin E: 250 µl

CK, AST: 250 µl

TEAC: 50 µl

Leber-, Nieren- und Fruktosamin werte: 500 µl

Zur Stabilisierung wurde der Serumprobe zur Vitamin C-Bestimmung im Verhältnis 1:1 5%ige Meta-Phosphorsäure zugegeben. Die Herstellung der meta-Posphorsäure erfolgte durch Lösen von 1 g Kristall meta-Phosphorsäure (Merck KGaA, Darmstadt) in 20 g Reinstwasser. Nach Zugabe zur Probe kam es zur Ausfällung der Serumproteine.

Die EDTA-Probe zur EGCG-Bestimmung wurde unter den gleichen Bedingungen wie die Serumprobe zentrifugiert. Anschließend wurden 200 µl Plasma in ein Reaktionsgefäß abpipetiert.

Die EDTA-Probe zur Überwachung des roten und weißen Blutbildes wurde zur vorübergehenden Lagerung in den Kühlschrank bei + 7 °C verbracht.

Die Lagerung der Serumproben zur Bestimmung des antioxidativen Status und der Plasmaproben zur Bestimmung von EGCG erfolgte bei – 80 °C.

Die Serumproben zur Vitamin E-, Vitamin C-, CK- und AST-Bestimmung wurden bei –18 °C gelagert.

## 4.4 Probenentnahme, Untersuchungen und Reinigung der Maulhöhle unter Narkose

### 4.4.1 Narkose

Zur Erhebung der in Tabelle 3 aufgeführten Daten wurden alle Katzen an Tag 0 und Tag 28 der Versuchsphase 1 und 2 in Narkose gelegt. Die in der Tabelle aufgeführte Reihenfolge entspricht der Abfolge der Durchführung während der Versuche.

Die Narkosen erfolgten in Kooperation mit Prof. Erhard und Dr. Hinke vom Klinikum Rechts der Isar (TU-München) und wurden dort für eine weitere Studie genutzt. Diese Studie beschäftigte sich mit der Kombination von Midazolam, Medetomidin und Ketamin für die Anästhesie bei Katzen (Ebner, 2004).

**Tabelle 3: Der Reihenfolge nach durchgeführte Behandlungen und erhobene Parameter unter Narkose**

Tag 0	Tag 28
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ BU-Proben</li> <li>▪ Halitosis</li> <li>▪ Gingivitisindex</li> <li>▪ Sondierungstiefe</li> <li>▪ Furkationsindex</li> <li>▪ Mobilitätsindex</li> <li>▪ Scaling</li> <li>▪ Politur</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ BU-Proben</li> <li>▪ Halitosis</li> <li>▪ Gingivitisindex</li> <li>▪ Sondierungstiefe</li> <li>▪ Plaqueindex</li> <li>▪ Zahnsteinindex</li> <li>▪ Furkationsindex</li> <li>▪ Mobilitätsindex</li> </ul>

Vor der Anästhesie erfolgte ein Futterentzug über ca. 12 Stunden bei freiem Angebot von Wasser. Zur Prämedikation wurde Atropinsulfat (Firma B. Braun, Melsungen) in einer Dosis von 0,04 mg / kg KG, intramuskulär etwa fünf Minuten vor Narkoseeinleitung injiziert. Die Einleitung der Narkose erfolgte durch eine intramuskuläre Injektion mit Midazolam- (Midazolam-ratiopharm®, Merckle GmbH, Blaubeuren), Medetomidin- (Domitor®, Orion Pharma, Espoo, Finnland) und Ketaminhydrochlorid (Narketan® 10, CHASSOT AG, Belp, CH).

Zu Beginn der Narkose wurde zum Schutz der Kornea bei fehlendem Lidschluß unter Narkose jeder Katze in beide Augen Augensalbe (Bepanthen<sup>®</sup>, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen) gegeben.

Da die Untersuchungen und Arbeiten an der Maulhöhle ca. eineinhalb Stunde pro Katze in Anspruch nahmen, wurde die Narkose bei Bedarf mit Hilfe von Propofol (Propofol-ratiopharm<sup>®</sup>, Merckle GmbH, Blaubeuren) aufrechterhalten.

Dazu wurde zu Beginn der Narkose eine Venenverweilkanüle (20G, 32 mm x 1 mm OD / 0,75 ID, Clinico, Bad Hersfeld) in die V. cephalica gelegt. Die Punktionsstelle wurde zuvor geschoren, desinfiziert und zur besseren Darstellung des Gefäßes gestaut. Über diesen intravenösen Zugang konnte je nach Bedarf die Narkosedauer gesteuert werden, indem eine Dosis von 0,3 bis 0,5 ml pro Tier ein- bis dreimal pro Narkose verabreicht wurde. Nach jeder Verabreichung wurde der intravenöse Zugang mit 0,9 %iger Kochsalzlösung (Firma B. Braun, Melsungen) gespült.

#### **4.4.2 Probenentnahme zur bakteriologischen Untersuchung**

##### **4.4.2.1 Probengewinnung**

Bei 10 Katzen wurden im Vorversuch Proben von der Plaque auf der Zahnoberfläche sowie Proben aus dem gingivalen Sulcus zur bakteriologischen Untersuchung entnommen. Zuvor war allen Katzen das Kontrollfutter gefüttert worden.

An Tag 0 und Tag 28 der Versuchsphasen 1 und 2 wurde exemplarisch bei zwei Katzen pro Gruppe die Entnahme von Plaqueproben und Proben aus dem gingivalen Sulcus durchgeführt. Die zwei Katzen jeder Gruppe unterschieden sich in den Vorversuchen hinsichtlich der Bakterienflora und der Bakterienanzahl voneinander und wurden deshalb ausgewählt.

Die Probenentnahme wurde am Anfang der Narkose durchgeführt, bevor andere Manipulationen an der Maulhöhle vorgenommen wurden, um eine Verfälschung des Probenmaterials zu vermeiden.

Die Entnahme der Plaque erfolgte stets vom Prämolaren 3 im linken Unterkiefer, wie in Abbildung 10 dargestellt. Da dieser Zahn zur späteren Beurteilung nicht herangezogen wurde, konnte der Plaquebelag an diesem Zahn entfernt werden ohne den Plaqueindex zu beeinflussen. Durch Drehen eines sterilen Einmaltupfers (PORTAGERM, bioMérieux, Italy) auf der buccalen Zahnoberfläche wurde der Plaquebelag entfernt. Dabei wurde darauf geachtet mit dem Tupper die Gingiva nicht zu berühren.



**Abbildung 10: Tupferprobenentnahme vom Prämolaren 3 auf der linken Kieferseite**



**Papierspitze im gingivalen Sulcus**

**Abbildung 11: Platzierung der Papierspitze im gingivalen Sulcus exemplarisch dargestellt am Caninus auf der linken Kieferseite und Kennzeichnung der Zähne die für die Probenentnahme aus dem gingivalen Sulcus herangezogen wurden**

Die Proben aus dem gingivalen Sulcus wurden immer auf der linken Kieferseite an den Canini des Ober- und Unterkiefers und am Prämolaren 3 des Oberkiefers entnommen. Dazu wurde jeweils eine sterile Papierspitze (Absorbent Paper Point, steril, seize: 20, length: 29 mm, AN-TAEOS®, Endodontic Synergy VDW GmbH, München) mittels einer sterilen Pinzette in den gingivalen Sulcus geschoben und dort für 10 Sekunden belassen. Pro Katze wurden 3 Paper-Point-Proben entnommen. Bei der Probenentnahme wurde darauf geachtet die supragingivale Zahnoberfläche nicht zu berühren, um keine Plaque zu entfernen und damit den später erhobenen Plaqueindex zu verfälschen. Die Entnahmestellen sowie die Platzierung der Papierspitze im Sulcus sind in Abbildung 11 dargestellt.

Während der gesamten Entnahme der bakteriologischen Proben wurden Handschuhe und Mundschutz getragen.

#### **4.4.2.2 Probenaufbewahrung**

Der Tupfer mit der daran befindlichen Plaque wurde in das zugehörige, sterile, gelartige Transportmedium zur Lagerung bei einer Temperatur von + 7 ° C in den Kühlschrank verbracht.

Die Papierspitzen wurden in verschließbare Probenröhrchen, die Rosenow-Boullion (LGL, Oberschleißheim) enthielten, gegeben. Alle drei Papierspitzen, die von einer Katze stammten, wurden in einer Rosenow-Boullion gesammelt. Zur Lagerung bei + 7 ° C wurden alle Boulliongefäße in einen Anaerobiertopf (Volumen 2,5 l, OXOID, England) mit einem AnaeroGen Beutel (AN 25, OXOID, England) zur Schaffung einer anaeroben Atmosphäre verbracht.

So konnten die Proben bis zur weiteren Verarbeitung am nächsten Tag problemlos gelagert werden.

#### 4.4.3 Bestimmung der Maulhöhlenparameter

Zur Dokumentation des Zustand der Maulhöhle wurden folgende Parameter bestimmt: Halitosis, Gingivitisindex, Sondierungstiefe, Plaqueindex, Zahnsteinindex, Furkationsindex und Mobilitätsindex. Durch diese Parameter wurde eine weitestgehend neutrale Beurteilung des Versuchsverlaufes ermöglicht.

Alle Maulhöhlenparameter, die an den Zähnen oder an der Gingiva zu bewerten waren, wurden ausschließlich auf der buccalen Seite bestimmt. Bei jeder Katze wurden C, P3 und P4 beidseits im Oberkiefer sowie C, P4 und M1 beidseits im Unterkiefer zur Bewertung herangezogen. In Abbildung 12 sind die zur Bewertung herangezogenen Zähne gekennzeichnet.



**Abbildung 12:** Zur Bewertung der Maulhöhlenparameter herangezogene Zähne exemplarisch an der linken Kieferseite dargestellt (C = Caninus, P3 = Prämolar 3, P4 = Prämolar 4, M1 = Molar 1)

##### 4.4.3.1 Halitosismessung

Zur Messung des Einflusses des Futters auf die Atemluft der Versuchstiere wurde an Tag 0 und Tag 28 jeder Versuchsphase der Atemgeruch der Katzen unter Narkose untersucht.

### Organoleptische Messung

Dazu wurde der Fang der jeweiligen Katze für 1 Minute geschlossen gehalten. Beim Öffnen wurde die Atemluft mittels des menschlichen Geruchssinnes auf einer Skala von 0 bis 3 beurteilt. Tabelle 4 erläutert die Skala zur Beurteilung der Atemluft.

Alle Messungen wurden stets von dem selben Untersucher durchgeführt.

**Tabelle 4: Skala zur Beurteilung der Atemluft**

Skala	Intensität des Atems
0	normal riechender Atem
1	geringgradig unangenehm riechender Atem
2	mittelgradig unangenehm riechender Atem
3	hochgradig unangenehm riechender Atem

### Halimetermessung

Zur neutralen Dokumentation der Atemluft und zur neutralen Verfolgung des Versuchsverlaufes wurde die Messung der Atemluft zusätzlich mit dem RH-17 Halimeter (Ansyco GmbH, Karlsruhe) durchgeführt. Hierbei wurden die reduzierten Schwefelkomponenten (VSC) wie z.B. H<sub>2</sub>S, Methylmerkaptan und Dimethylsulfid quantifiziert. Zur Stabilisierung musste das Gerät 30 Minuten nach Anschluss an die Steckdose stabilisiert werden und anschließend auf 0 kalibriert werden.

Auf den Schlauch am Gaseingang wurde für jede Katze jeweils ein neuer Halm aufgesteckt. Um zu verhindern, dass das Ende des Halmes den Gaumen berührte, wurde dort jeweils eine Manschette aus Gummi angebracht. Zur Messung wurde der automatische Messzyklus des Halimeters gewählt. Der Fang wurde dabei 3 Minuten vor Probenentnahme geschlossen gehalten, um die VSC-Konzentration in der Maulhöhle aufzubauen. Anschließend wurde der Halm auf den Zungenrücken in die Mitte des Mauls gelegt. Dieses wurde dann annähernd geschlossen gehalten, bis sich ein Maximalwert der VSC-Konzentration am Halimeter einstellte. Nach Entfernung des Halmes wurde das Maul wieder für 3 Minuten bis zur nächsten Messung geschlossen gehalten. Insgesamt wurden 3 Messungen pro Katze nach dem beschriebenen Schema durchgeführt.

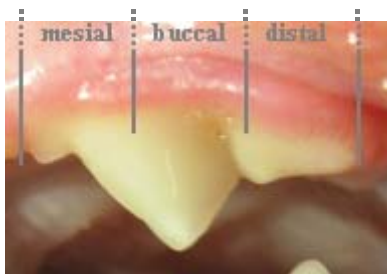
Von den Maximalwerten der 3 Messungen wurde der Mittelwert errechnet.

Die gemessenen Daten wurden zusätzlich durch Anschluss des Halimeters an einen PC über die Software Halisoft (Ansyco GmbH, Karlsruhe) graphisch in Form von Haligrammen visualisiert und dokumentiert.

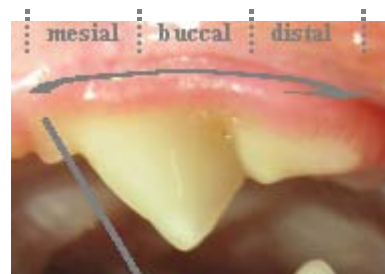
#### 4.4.3.2 Gingivitisindex

Mit dem Gingivitisindex wurde der Schweregrad der Entzündung des Zahnfleisches beurteilt. Es wurde der Gingivitisindex nach Logan et. al (1992) zur Beurteilung herangezogen. Das auf der buccalen Seite zu beurteilende Zahnfleisch wird bei diesem Index vertikal in ein mesiales, buccales und distales Drittel, wie in Abbildung 13 dargestellt, unterteilt. Jedes Drittel wird separat auf einer Skala von 0 bis 3 beurteilt. Bewertet wird der Entzündungsgrad des Zahnfleisches anhand der Rötung der Gingiva und der Blutungsneigung.

Die Rötung der Gingiva wurde rein optisch gemessen. Gelegentlich wurde eine Parodontalsonde (Hu Friedy<sup>®</sup>, Chicago, USA) mit integrierter Milimeterskala zur Hilfe genommen. Die Sonde wurde dann neben das gerötete Zahnfleisch gelegt und anhand der Skala konnte die Höhe der Rötung abgelesen werden. Zur Dokumentation der Gingivitis wurde die Gingiva jeder Katze auf der linken und rechten Kieferseite fotografiert.



**Abbildung 13: Aufteilung der Gingiva an der buccalen Seite in ein mesiales, buccales und distales Drittel, exemplarisch dargestellt am P4 des linken Oberkiefers**



**Abbildung 14: Zugrichtung der Parodontalsonde durch den gingivalen Sulcus zur Beurteilung der Blutungsneigung**

Die Blutungsneigung der Gingiva wurde mittels einer stumpfen Parodontalsonde (Aesculap<sup>®</sup>, Tuttlingen) mit Druck-Kalibrierung von 0,2 Newton ermittelt. Die Sonde wurde mesial in den gingivalen Sulcus eingeführt und durch den gesamten Sulcus auf der buccalen Seite mit gleichbleibenden Druck nach distal gezogen (Abbildung 14). Die Sonde wurde dabei parallel



zur Zahnoberfläche und senkrecht zum marginalen Saum bis jeweils in den Papillenspitzenbereich hineingeführt.

Die Druck-Kalibrierung der Sonde half beim schonungsvollen Sondieren des gingivalen Sulcus. Dadurch wurde eine Gewebeerstörung vermieden, da die Sonde nur mit leichtem Druck durch den Sulcus gezogen werden konnte.

Die bei der Sondierung innerhalb von 30 Sekunden aufgetretenen Blutungen wurden in das nachfolgende Punkteschema, das in Tabelle 5 erläutert wird, von 0 bis 2 miteinbezogen. Spontan auftretende Blutungen wurden in der Punkteskala mit 3 bewertet.

Die Werte für jedes Drittel eines Zahnes wurden summiert, so dass sich für jeden beurteilten Zahn ein Wert ergab. Aus der Summe der Werte für jeden Zahn wurde anschließend der Mittelwert errechnet, um ein Gesamtergebnis des Gingivitisindex für die gesamte Maulhöhle zu erhalten.

**Tabelle 5: Bewertungsschema für den Gingivitisindex auf einer Skala von 0 bis 3**

Skala	Farbe der Gingiva vor Sondierung	Blutung im gingivalen Sulcus nach Sondierung
<b>0</b>	rosa	keine Blutung nach Sondierung
<b>0,5</b>	geringgradige Rötung < 1 mm	
<b>1</b>	mittelgradige Rötung 1 – 2 mm	
<b>2</b>	starke Rötung 2- 3 mm	Blutung nach Sondierung
<b>3</b>	starke Rötung > 2 mm	Blutung spontan

#### 4.4.3.3 Sondierungstiefe

Die Sondierung des gingivalen Sulcus wurde durchgeführt, um Veränderungen des marginalen Parodonts festzustellen.

Der Bereich zwischen Zahnschmelz und freiem Zahnfleischrand wurde mit einer stumpfen Parodontalsonde (Aesculap<sup>®</sup>, Tuttlingen) mit integrierter Milimeterskala und kalibrierten Druck von 0,2 Newton sondiert. Dazu wurde die buccale Seite des jeweils zu sondierenden Sulcus wie zur Beurteilung des Gingivitisindex in ein mesiales, buccales und distales Drittel unterteilt. Die Sonde wurde in jedem Drittel senkrecht zum marginalen Saum der Gingiva und

parallel zum Zahnhals bis zum Papillenspitzenbereich geschoben, bis ein leichter Widerstand gefühlt wurde. Durch die Druck-Kalibrierung der Sonde konnte der Sulcus stets mit dem gleichen Druck untersucht werden. Gleichzeitig wurde eine Gewebeschädigung durch Sondierung mit zu starkem Druck vermieden.

Die Sondierungstiefe in jedem Drittel wurde als Distanz in mm vom marginalen Saum der Gingiva bis zum Papillenspitzenbereich angegeben.

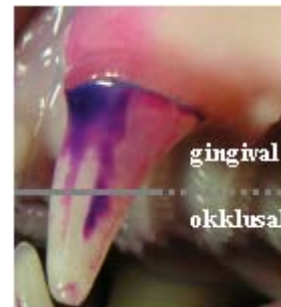
Die Werte für jedes Drittel eines Zahnes wurden summiert, so dass sich für jeden beurteilten Zahn ein Wert ergab. Aus der Summe der Werte für jeden Zahn wurde anschließend der Mittelwert errechnet, um ein Gesamtergebnis der Sondierungstiefe für die gesamte Maulhöhle zu erhalten.

#### 4.4.3.4 Plaqueindex

Zur Beurteilung und Dokumentation der Plaque wurde der Index von Turesky - veterinärmedizinisch modifiziert – gewählt. Es wurde die prozentuale Bedeckung der Zahnoberfläche mit Plaque und die Dicke des Plaquebelags beurteilt.



**Abbildung 15:** Anfärbung der Plaque auf der Zahnoberfläche nach Anwendung von Mira-2-Ton-Lösung



**Abbildung 16:** Unterteilung der buccalen Zahnfläche in eine gingivale und eine okklusale Hälfte, exemplarisch dargestellt am Caninus des linken Oberkiefers

Die Darstellung der Plaque erfolgte mit MIRA-2-TON-Lösung (Hager & Werken, Duisburg) Sie wurde mit einem Wattestäbchen auf die Zahnoberfläche aufgetragen. Dazu wurde auf das Wattestäbchen soviel MIRA-2-TON-Lösung geträufelt, bis es vollständig durchtränkt war. Anschließend wurde die Färbelösung auf die Zahnoberfläche aufgetupft und auf der gesamten buccalen Zahnfläche verteilt. Dies erfolgte vorsichtig, ohne Druck auszuüben, um keine

Plaque zu entfernen. Mit Wasser aus einer Sprühflasche wurde die Färbelösung, die nicht an der Plaque anhaftete, aus der Maulhöhle entfernt.

Bei MIRA-2-TON-Lösung drückt die Art der Farbe das Alter der Plaque aus und die Intensität der Färbung die Plaquedicke. Alte Plaque, die mindestens seit 24 Stunden besteht, stellt sich dunkelblau dar, neue, höchstens 24 Stunden alte Plaque, rosa. Abbildung 15 zeigt die angefärbte Plaque.

Die buccale Fläche jedes zu beurteilenden Zahnes wurde wie in Abbildung 16 dargestellt, horizontal geteilt, so dass die dabei entstandene okklusale und gingivale Fläche getrennt voneinander beurteilt werden konnte. Für jede Hälfte wurde ein Wert von 0 bis 4 für die prozentuale Bedeckung mit Plaque und ein Wert von 1 bis 3 für die Plaquedicke erhoben. Tabelle 6 erläutert die Skalen für die Bewertung der Plaque.

**Tabelle 6: Skalen für die Bewertung der Plaque**

Skala	prozentuale Bedeckung mit Plaque	Skala	Anfärbeintensität der Plaque
0	keine Plaque	0	keine Plaque
1	1 – 24 %	1	hell
2	25 – 49 %	2	mittel
3	50 – 74 %	3	dunkel
4	75 – 100 %		

Für jede Hälfte eines Zahnes wurde der Wert für die Bedeckung mit dem Wert für die Dicke multipliziert. Anschließend wurden die Werte der beiden Hälften eines Zahnes addiert, um einen Plaqueindex für den gesamten Zahn zu erhalten. Für den Plaqueindex der gesamten Maulhöhle einer Katze wurde der Mittelwert aus den Werten der einzelnen beurteilten Zähne gebildet.

Zur Dokumentation wurde das eingefärbte Gebiss jeder Katze von der linken und rechten Seite fotografiert.

Nach Beendigung der Beurteilung wurde die Färbelösung mit Wasser und einer weichen Kinderzahnbürste durch vorsichtig kreisende Bewegungen entfernt.

#### 4.4.3.5 Zahnsteinindex

Die Bewertung des Zahnsteins auf der buccalen Zahnfläche erfolgte gemäß Logan (1996) Makroskopisch und mittels einer spitzen Parodontalsonde (Hu Friedy<sup>®</sup>, Chicago, USA) wurde die prozentuale Bedeckung der Zahnoberfläche mit Zahnstein beurteilt.

Zur Darstellung der Zahnsteingrenzen wurden die buccalen Zahnflächen getrocknet. Dazu wurde ein Kaltluftfön verwendet. Dieser wurde in einem Mindestabstand von 30 cm auf die Zähne der jeweiligen Kieferseite gerichtet, bis die Zahnoberflächen trocken waren.

Auf der trockenen Zahnoberfläche grenzt sich Zahnstein deutlich weiß bis gelblich vom Zahnschmelz ab. Dadurch ließ sich der Zahnstein gut durch makroskopische Betrachtung vom Zahnschmelz unterscheiden.

Bei sehr dünnem Zahnstein wurde eine spitze Sonde zu Hilfe genommen. Mit ihr wurde die Zahnoberfläche durch kratzende Bewegungen abgetastet. Da Zahnstein eine raue Oberfläche aufweist, konnte er so vom glatten Zahnschmelz unterschieden werden.

Zur Bewertung wurde die Buccalfläche des jeweiligen Zahnes in ein mesiales, buccales und distales Drittel unterteilt. Jedes dieser Drittel wurde einzeln auf einer Skala, die in Tabelle 7 erläutert ist, von 0 bis 4 beurteilt.

**Tabelle 7: Skala zur Beurteilung des Zahnsteinindex**

Skala	prozentuale Bedeckung der Zahnoberfläche mit Zahnstein
1	1 – 24 %
2	25 – 49 %
3	50 – 74 %
4	75 – 100 %

Für jeden Zahn wurde aus Summe der Werte der jeweiligen Drittel ein Mittelwert errechnet. Aus diesen wurde der Mittelwert für den Zahnsteinindex der gesamten Maulhöhle gebildet.

Nach der Beurteilung der Zähne wurde die trockene Maulhöhle mit etwas Wasser, das durch eine Sprühflasche aufgetragen wurde, wieder angefeuchtet.

#### 4.4.3.6 Furkationsindex

Der Furkationsindex dient zur Untersuchung des Verlusts von Stützgewebe des Zahnes. Der Index wurde mit Hilfe einer stumpfen Parodontalsonde (Hu Friedy<sup>®</sup>, Chicago, USA) bestimmt. Dazu wurde der Furkationsbereich des zu beurteilenden Zahnes vorsichtig mit der Sonde untersucht. Der dabei festgestellte Verlust von Stützgewebe wurde nach einem Punkteschema von 0 bis 3 bewertet. Die Erläuterung diese Schemas erfolgt in Tabelle 8.

**Tabelle 8: Beurteilungsschema zum Furkationsindex**

Skala	Verlust von Stützgewebe
0	kein Verlust von Stützgewebe
1	horizontaler Verlust von Stützgewebe, kleiner als 1/3 der Zahnbreite
2	horizontaler Verlust von Stützgewebe, 1/3 der Zahnbreite, aber nicht den gesamten Furkationsbereich umfassend
3	horizontaler Verlust von Stützgewebe, den gesamten Furkationsbereich umfassend

Die Werte für die einzelnen Zähne wurden addiert und durch die Anzahl der beurteilten Zähne geteilt, um den Furkationsindex für die gesamte Maulhöhle zu erhalten.

#### 4.4.3.7 Mobilitätsindex

Der Mobilitätsindex bewertet den Lockerungsgrad des Zahnes.

Zur Bewertung der Beweglichkeit des Zahnes innerhalb der Alveole wurde versucht den Zahn mit einer Parodontalsonde (Hu Friedy<sup>®</sup>, Chicago, USA) auf der einen und der Fingerkuppe auf der anderen Seite zu bewegen. Die Sonde wurde parallel zum Gingivarand auf die okklusale Hälfte des Zahnes aufgesetzt. Dann wurde mit der Sonde auf die Zahnoberfläche leichter Druck nach buccal ausgeübt. Mit der Fingerkuppe wurde anschließend nach lingual gedrückt. Die dabei festgestellte Beweglichkeit des Zahnes wurde auf einer Skala von 0 bis 3 beurteilt. Die genaue Bewertung schildert die nachfolgende Tabelle:

Um den Mobilitätsindex für die gesamte Maulhöhle zu ermitteln, wurde der Mittelwert aus allen beurteilten Zähnen gebildet.

**Tabelle 9: Bewertungsschema für den Mobilitätsindex**

Skala	Beweglichkeit des Zahnes in der Alveole
<b>0</b>	keine Beweglichkeit
<b>1</b>	wahrnehmbare Beweglichkeit, kleiner als 1mm nach buccolingual
<b>2</b>	deutliche Beweglichkeit, zwischen 1 und 2 mm nach buccolingual
<b>3</b>	starke Beweglichkeit, mehr als 2 mm nach buccolingual oder vertikale Mobilität

#### 4.4.3.8 Reinigung der Maulhöhle

Eine gründliche Reinigung der Maulhöhle wurde in jeder Versuchsphase an Tag 0 durchgeführt. Dadurch wurden bei allen Katzen annähernd gleiche Ausgangsbedingungen für Plaque- und Zahnsteinbildung geschaffen.

Die Reinigung umfasste das Entfernen des Zahnsteins und die anschließende Politur der Zahnoberfläche. Sie wurde unter Narkose durchgeführt, da nur so eine gründliche Reinigung gewährleistet war.

##### 4.4.3.8.1 Zahnsteinentfernung

Das Entfernen des Zahnsteins erfolgte mit dem Ultraschallzahnsteinentfernungsgerät (Suprason P5 Booster<sup>®</sup>, Satelec, Mettman). Es wurde darauf geachtet, dass beim Einsatz dieses Geräts zur Vermeidung von Schäden am Zahn die Arbeitsspitze (Suprason-Arbeitsspitze Nr.1, Satelec, Mettman) unter ausreichender Wasserkühlung, drucklos und in ständiger Bewegung über die Zahnoberfläche geführt wurde. Auf keinem Zahn verblieb die Arbeitsspitze kontinuierlich länger als 15 Sekunden, um thermische Schäden der Pulpa zu vermeiden. Zur Wasserkühlung, zum Wegspülen der gelösten Beläge sowie zum Spülen des gingivalen Sulcus wurde das Zahnsteinentfernungsgerät an einen Wassertank (A. Albrecht GmbH & Co KG, Aulendorf) angeschlossen. Die Spitze des Instruments wurde in einem Winkel von 45 Grad zur Zahnoberfläche aufgesetzt und supra- und subgingival sanft von einer Seite zur anderen über den Zahn bewegt. Es wurde nur die flache Seite der Arbeitsspitze benutzt um eine Beschädigung der Schmelzschicht zu vermeiden.

Verbleibende Konkremente im gingivalen Sulcus sowie auf der freiliegenden Zahnoberfläche wurden mit einer Kürette (Gracey DE AF, Hu-Friedy<sup>®</sup>, Chicago USA) restlos entfernt.

Wegen der bakterienhaltigen Aerosolbildung während der Zahnsteinentfernung wurde Mundschutz und Schutzbrille getragen.

#### 4.4.3.8.2 Politur

Im direkten Anschluß erfolgte die Politur um die aufgerauhte supra- und subgingivale Zahnoberfläche nach der Zahnsteinentfernung zu glätten.

Es wurde ein Micromotor (Micromotor 31, Nouvag<sup>®</sup>, Konstanz) als Antrieb und ein Winkelstück (4:1 – 128:1, A. Albrecht GmbH & Co KG, Aulendorf) zum Einsetzen der Poliernäpfe mit Lamellen (PD 1, A. Albrecht GmbH & Co KG, Aulendorf) verwendet. Als Poliermittel diente eine Polierpaste für Zähne mit feinkörnigen Schleifpartikeln (Depurident<sup>®</sup>, Dr. Wild & Co AG, Basel, CH).

Bei der Politur wurde darauf geachtet, dass der Poliernapf stets mit reichlich Poliermittel aufgefüllt wurde, um ein Trockenlaufen zu verhindern. Der Napf wurde mit bis zu maximal 3000 Umdrehungen pro Minute und sanften Druck über die Zahnoberfläche geführt. Wiederum zur Vermeidung von thermischen Schäden der Pulpa wurde der Napf auf dem einzelnen Zahn ständig bewegt. Außerdem wurde kein Zahn länger als 10 Sekunden kontinuierlich poliert.

Nach der Politur wurden die Reste der Polierpaste mit Wasser aus einer Sprühflasche und einer weichen Kinderzahnbürste entfernt.

## 4.5 Laborbestimmungen

### 4.5.1 Blutbild

Die EDTA-Blutproben wurden in einem Cell-Dyn<sup>®</sup> 3500R –Automaten der I. Medizinischen Tierklinik der LMU München ausgewertet.

Es wurden folgende Blutparameter zur Überwachung der Gesundheit der Tiere bestimmt:

Leukozyten, neutrophile Granulozyten, eosinophile Granulozyten, basophile Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten, Erythrozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular haemoglobin (MCH), mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC).

Thrombozyten wurden während des Versuchs und des Vorversuchs mindestens einmal von Hand ausgezählt.

### 4.5.2 Leber-, Nierenwerte und Fruktosamin

Leber- und Nierenwerte sowie Fruktosamin wurden aus den Serumproben in der I. Medizinischen Tierklinik der LMU München am Tag nach der Blutentnahme gemessen (Hitachi 911, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim). Die Messung erfolgte zur Überwachung des Einflusses der Narkose auf die Tiere. Die Leberwerte wurden nur während des Vitamin C-Versuchs überprüft. Die Bestimmung der Nieren- und Fruktosaminwerte wurde während des Vitamin C- und des EGCG/LF-Versuchs durchgeführt.

Folgende Werte wurden bestimmt:

Alanin-Amino-Transferase (ALT), Alkalische Phosphatase (AP), Aspartat-Amino-Transferase (AST), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), Harnstoff, Kreatinin und Fruktosamin.

### 4.5.3 Bestimmung des antioxidativen Status im Blut

#### 4.5.3.1 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) im Serum

Die antioxidative Kapazität wurde nach der von Miller et al. (1993) beschriebenen Methode bestimmt. Die Messergebnisse werden in TEAC angegeben. Sie ist definiert als die Konzentration von Trolox in mmol/l, die die gleichwertige antioxidative Kapazität einer 1,0 mmol/l Lösung der zu untersuchenden Substanz besitzt.



#### 4.5.3.1.1 Testprinzip und Reagenzien

Die Methode beruht darauf, dass in der Gegenwart von Antioxidantien die Bildung von Radikalen verhindert wird. Im Serum kommen als Antioxidantien hauptsächlich Ascorbinsäure,  $\alpha$ -Tocopherol, Bilirubin, Glutathion, Albumin und Harnsäure vor. Ihre antioxidative Kapazität lässt sich durch Reaktion mit dem langlebigen  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ -Radikal-Kation, das bei der Reaktion von Manganese-Dioxide mit 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) entsteht, photometrisch bestimmen. Da das Absorptionsmaximum des  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ -Radikals bei 734 nm bekannt ist, kann nach Zugabe von Serum die Abnahme der Farbintensität der  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ -Lösung am Photometer bei 734 nm gemessen werden.

#### verwendete Reagenzien:

- **5 mM PBS-Puffer-Lösung pH 7,4:**

Es wurde  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{ H}_2\text{O}$  (1,7907 g/l) mit  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$  (0,655 g/l) zu einem pH von 7,4 gemischt und 9,0 g/l NaCl zugesetzt.

- **$\text{ABTS}^{\bullet+}$ -Radikal-Kation:**

Eine 5 mM ABTS-Stammlösung wurde hergestellt: 0,1372 g ABTS diammonium salt (Sigma<sup>®</sup>, Deisenhofen) wurden in 50 ml PBS-Puffer gelöst.

Diese hellgrüne ABTS-Lösung wurde über Mangan-Dioxid ( $\text{MnO}_2$ , activated, Sigma<sup>®</sup>, Deisenhofen) durch ein Whatman No.5 –Filterpapier gegossen. Dabei entstand das  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ -Radikal-Kation und die Lösung färbte sich dunkelgrün. Durch Filtration mit einem 0,2 $\mu$  Whatman PVDF syringe filter wurde überschüssiges  $\text{MnO}_2$  entfernt.

Die  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ -Lösung ist einige Tage im Dunkeln im Kühlschrank haltbar.

Unmittelbar vor der Messung wurde sie mit PBS-Puffer auf eine Extinktion von 0,700 (+/- 0,002) bei 734 nm verdünnt. Als Nullwert diente PBS-Puffer.

- **Trolox:**

Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid ; Sigma<sup>®</sup>, Deisenhofen) wurde als antioxidativer Standard benutzt.

Es wurde eine 2,5 mM Troloxlösung als Stammlösung hergestellt. Dafür wurden 62,57 mg Trolox mit 100 ml PBS-Puffer versetzt. Bei diesem pH und in dieser Konzentration ist die Löslichkeitsgrenze für Trolox erreicht. Man kann die Kristalle nur noch durch Ultraschall ganz in Lösung bringen.

Die  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ -Stammlösung kann eingefroren werden und ist bei  $-20^\circ\text{C}$  mindestens 6 Monate haltbar. Täglich frisch wurden daraus die Standards für die Kalibrierkurve bereitet:

- 2,5 mM Trolox : unverdünnt
- 2,0 mM Trolox : 100 µl 2,5 mM Trolox + 25 µl PBS
- 1,5 mM Trolox : 100 µl 2,5 mM Trolox + 65 µl PBS
- 1,0 mM Trolox : 100 µl 2,5 mM Trolox + 150 µl PBS
- 2,0 mM Trolox : 100 µl 2,5 mM Trolox + 400 µl PBS

#### 4.5.3.1.2 Methode

Vor Messung der Proben wurde der Nullwert bei 734 nm am Photometer (Spectronic 601, MILTON ROY) mit PBS-Puffer eingestellt. Anschließend wurde die ABTS<sup>•+</sup>-Stammlösung mit PBS-Puffer auf eine Extinktion von 0,700 (+/-0,002) verdünnt.

10 µl Serum wurden in eine PMMA-Halbmikroküvette (Plastibrand<sup>®</sup>, BRAND) pipettiert und 950 µl ABTS<sup>•+</sup>-Lösung (Extinktion: 0,0700) zugegeben. Nach kurzem Schütteln wurde die Extinktion bei 734 nm nach exakt 1 Minute abgelesen.

Die Proben wurden stets zweimal gemessen.

#### 4.5.3.1.3 Berechnung

Zur Erstellung der Kalibrierkurve wurden aus den Doppelmessungen der Standardlösungen die Extinktionsmittelwerte errechnet. Aus den Mittelwerten und der folgenden Formel ergibt sich für die verschiedenen Standardkonzentrationen die Total Antioxidant Activity (TAA):

$$TAA_{\text{Standard / Probe}} = \frac{\text{Extinktion}_{\text{Nullwert (0 mmol/l Trolox)}} - \text{Extinktion}_{\text{Standard / Probe (x mmol/l Trolox)}}}{\text{Extinktion}_{\text{Nullwert (0 mmol/l Trolox)}}}$$

Mit den erhaltenen Werten wurde eine Kalibrierkurve mit der Troloxkonzentration in mmol/l auf der X-Achse und der dazugehörigen TAA auf der Y-Achse erstellt. In dieses Diagramm wurde mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogrammes Microsoft<sup>®</sup> Excel 97 eine Trendlinie gezeichnet und ihre Formel berechnet.

Mit dieser Formel wurde anschließend die TEAC für die Serumproben berechnet. Dafür wurden aus den Doppelmessungen der Proben ebenfalls die Extinktionsmittelwerte errechnet und die TAA nach der oben aufgeführten Formel berechnet. Die Formel der Kalibrierkurve wurde nach x umgestellt und durch Einsetzen des Wertes TAA<sub>Probe</sub> die TEAC<sub>Probe</sub> in mmol/l berechnet.

### 4.5.3.2 Vitamin E im Serum

#### 4.5.3.2.1 Prinzip

Die Konzentration des Antioxidanz Vitamin E im Serumextrakt wurde mittels High Performance Liquid Chromatography (HPLC) mit Fluoreszenzdetektor gemessen.

#### 4.5.3.2.2 Reagenzien

- **$\alpha$ -Tocopherol:** (Art.Nr. T- 3251, Sigma<sup>®</sup>, Deisenhofen)
- **n-Hexan:** p.a., ACS (Merck Kga A, Darmstadt)
- **Methanol:** (Merck KgaA, Darmstadt)  
LiChrosolv<sup>®</sup>, gradient grade für Flüssigkeitschromatographie
- **Ethanol:** (Merck KgaA, Darmstadt)LiChrosolv<sup>®</sup>,  
gradient grade für Flüssigkeitschromatographie
- **Lösungsmittel:** Methanol (80 Volumenanteile) : Ethanol (20 Volumenanteile)
- **Elutionsmittel:** Methanol mit 3 % Millipore-Wasser

#### 4.5.3.2.3 Probenvorbereitung

Zur Extraktion von Vitamin E aus den Serumproben wurden 100  $\mu$ l Serum in einem Zentrifugenröhrchen mit 100  $\mu$ l destilliertem Wasser verdünnt. Durch Zugabe von 375  $\mu$ l Ethanol und nach schütteln auf dem Vortex-Mixer kam es zur Ausfällung der Proteine. Das Vitamin E wurde anschließend durch Zugabe von 0,5 ml n-Hexan extrahiert. Nach Schütteln auf dem Vortex-Mixer und der Zentrifugation bei 3000 U für 5 Minuten wurde die Hexanphase abpipetiert. Unter Stickstoffgas wurde die Hexanphase verdampft. Das verbliebene trockene Vitamin E wurde schnellstmöglich in 100  $\mu$ l Lösungsmittel aufgenommen und bis zur Analytik bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert.

#### 4.5.3.2.4 Methode

Zunächst wurde ein Vitamin E – Standard hergestellt. Dazu wurde ein Tropfen  $\alpha$ -Tocopherol in 100 ml Ethanol gelöst und die Extinktion in einer UV-Halbmikroküvette (Plastibrand<sup>®</sup>, BRAND) bei 295 nm photometrisch gemessen. Die molare Konzentration der Standardlösung ließ sich durch den Extinktionskoeffizienten von  $\alpha$ -Tocopherol (75,8) und das Molekulargewicht (430,69 g/mol) errechnen:

Extinktion  $_{295\text{nm}}$  :  $75,8 = x_1 \text{ g} / 100 \text{ ml}$  ( $= x_2 \text{ g/l}$ )

$x_2 \text{ g/l}$  :  $430,69 \text{ g/mol} = y_1 \text{ mol/l}$  ( $= y_2 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ).

Für den Messvorgang wurde der Standard in HPLC-Vials mit Glaseinsatz pipetiert.

#### HPLC-Anlage :

- **Fluoreszenzdetektor:** Shimadzu, RF-551 S Spectrofluorometric, Shimadzu, Oberhaching/München
- **Pumpe und Steuergerät:** Waters 510 Solvent Delivery System und Waters Automated Gradient Controller, Waters Millipore S.A.
- **Chromatographiesäule:** Lichrosorb Si-60 (5 $\mu$ ) 125 x 4,6 m, Fa. Grom Analytik, Herrenberg
- **Probengeber:** Shimadzu SIL 10 AD, mit integrierter Probenkühlung, Shimadzu, Oberhaching/München

Die tiefgekühlten Vitamin E-Extrakte wurden auf Raumtemperatur gebracht und für den Messvorgang wie die Standards in HPLC-Vials mit Glaseinsatz pipetiert.

Zunächst wurde der Leerwert und ein Standard durch die Säule laufen gelassen, um den Zeitpunkt zu ermitteln, an dem der Vitamin E-Peak erscheint. Danach wurden die Proben analysiert.

Als mobile Phase wurde Methanol bei einer Flussrate von 1 ml/min verwendet. Die Messung wurde fluorimetrisch bei einer Extinktion von 295 nm und einer Emission von 330 nm durchgeführt.

#### 4.5.3.2.5 Auswertung

Die Auswertung erfolgte mit Chromatography Laboratory Automated Software System "Class-vp 2.1" (Shimadzu, Oberhaching/München). Die Vitamin E-Peaks von Standard und Probe wurden integriert und die Flächen berechnet. Die Peakfläche ist der Vitamin E-Konzentration proportional. Dadurch wurde über die Fläche des Standards und seiner bekannten molaren Konzentration die Vitamin E-Konzentrationen der Proben errechnet. Das Ergebnis wurde mit 2 multipliziert, da die Serumproben in der Vorbereitung 1:1 mit Wasser verdünnt worden waren.

#### 4.5.3.3 Vitamin C im Serum

Die Vitamin C-Konzentration im Serum wurde nicht nur für den antioxidativen Status bestimmt. In der Versuchsphase 1 wurde sie auch zum Vergleich der Serumkonzentrationen nach der Fütterung des Natrium Ascorbyl Monophosphat-Futters herangezogen.

#### 4.5.3.3.1 Prinzip

Die Vitamin C-Konzentration wurde modifiziert nach der von Schüep et. al. (1984) beschriebenen Methode bestimmt.

L-Ascorbinsäure wird mit meta-Phosphorsäure verdünnt und anschließend mit Acetonitril verdünnt. Die quantitative Bestimmung erfolgt mittels HPLC.

#### 4.5.3.3.2 Reagenzien

- **meta-Phosphorsäure:** 5 %ig in Aqua dest. (Merck KGaA, Darmstadt)
- **Acetonitril:** 1 g ad 200ml Aqua dest. (Thiourea, Sigma<sup>®</sup>, Deisenhofen)
- **Vitamin C:** L(+)-Ascorbinsäure (p.a., Merck KGaA, Darmstadt)

#### 4.5.3.3.3 Probenvorbereitung

Zunächst wurde ein Vitamin C-Standard hergestellt. Dazu wurden 100 mg Vitamin C mit 1 ml meta-Phosphorsäure versetzt. Diese Lösung wurde mit meta-Phosphorsäure auf Konzentrationen von 0,005 mg/ml (STANDARD 1), 0,01 mg/ml (STANDARD 2), 0,02 mg/ml (STANDARD 3) und 0,05 mg/ml (STANDARD 4) verdünnt. Diese Standards wurden täglich frisch hergestellt.

#### 4.5.3.3.4 Methode

Die sofort nach der Probenentnahme 1:1 mit meta-Phosphorsäure versetzten Serumproben wurden aufgetaut. Es wurden folgende Ansätze in Eppendorf-Cups mit Schraubverschluß pipettiert: 100 µl meta-Phosphorsäure (LEERWERT) bzw. STANDARD 1,2,3,4 bzw. 100 µl Serum/meta-Phosphorsäure-Gemisch (PROBE) wurden 100 µl meta-Phosphorsäure zugegeben. Anschließend wurden die Ansätze geschüttelt und zentrifugiert. Es folgte die Zugabe von 100 µl Acetonitril und erneutes Schütteln der Ansätze. Das in dem Ansatz befindliche Vitamin C wurde mittels HPLC quantitativ bestimmt.

#### HPLC-Anlage:

- **Elutionsmittel:** Ethylacetat:Diisopropylether (2:3) und 1% Eisessig

- **Pumpe:** Gynothek High Precision Pump Model 300 C, Flußrate: 1,5 ml/min, Druck: ca. 60 bar
- **Probengeber:** Kontron HPLC Autosampler 460, Injektionsvolumen: 20 µl, Analysezeit: 12 Minuten
- **Säule:** Lichrosorb Si 60, 5 µm, 250 x 4,6 mm und Vorsäule
- **Detektor:** UVIKON 735 LC, Fa. KONTRON INSTRUMENTS, Wellenlänge 520 nm.

#### 4.5.3.3.5 Auswertung

Die Proben wurden mit Hilfe des Chromatography Laboratory Automated Software System "Class-vp 2.1" (Shimadzu, Oberhaching/München) ausgewertet. Nach Integration der Peaks und Berechnung der Flächeninhalte wurden die Flächen der Serumproben mit denen der bekannten Standards verglichen und die Vitamin C-Konzentration der Proben ausgerechnet.

#### 4.5.3.4 Aspartat-Amino-Transferase (AST) und Kreatinkinase (CK) im Serum

Die AST ist vor allem bei der Katze bei Leberkrankheiten recht früh und deutlich erhöht. Sie ist ein nicht leberspezifisches Enzym, das im Blutserum bei Zellnekrosen erhöht ist. Wenn Muskelerkrankungen durch Ermittlung der CK-Konzentration im Serum ausgeschlossen werden können, eignet sie sich gut zur Diagnose von Lebererkrankungen.

AST und CK wurden an der I. Medizinischen Tierklinik der LMU München gemessen. Zur Messung wurde das Hitachi 911 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) verwendet.

#### 4.5.4 Bestimmung der Epigallocatechin Gallat(EGCG)-Konzentration im Plasma

Die bei -80°C gelagerten Plasmaproben wurden von Roche Vitamins Ltd., Basel, CH analysiert.

#### 4.5.5 Bestimmung antibakterieller Aktivität

Zur Bestimmung der antibakteriellen Aktivität von Natrium Ascorbyl Monophosphat und EGCG in Kombination mit Lactoferrin wurde das von den Katzen entnommene Probenmaterial zur bakteriologischen Untersuchung am Bayrischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) in Oberschleißheim unter der Leitung von Frau Dr. Kahlau angezchtet und differenziert.

##### 4.5.5.1 Nährböden und Anreicherungsmedien

Zur Anzuchtung des Probenmaterials wurde als komplexes Universalmedium Blutagar gewählt. Die Nährböden wurden vor ihrer Verwendung für ca. 24 Stunden bei + 37 °C vorbebrütet, um eventuelle Verunreinigungen der Platten zu erkennen. Nährböden, auf denen nach der Vorinkubation Bakterienkolonien oder Pilzkulturen wuchsen, wurden aussortiert. Somit wurden für die Probenverarbeitung nur sterile Platten eingesetzt.

Als Anreicherungsmedium für die Papierspitzen-Proben wurden die Rosenow-Boullions verwendet, die auch zum Transport und zur Lagerung (Kapitel C 3.4.4.2.2) genutzt worden waren.

##### 4.5.5.2 Probenverarbeitung und Inkkubation

###### 4.5.5.2.1 Tupferproben

Innerhalb von 24 Stunden nach Entnahme wurden alle gewonnenen Tupferproben weiterverarbeitet. Bis zu ihrer Verarbeitung wurden die Proben wie in Kapitel C 3.4.4.2.2 beschrieben im Kühlschrank bei + 7 °C gelagert.

Von dem Tupfer wurde die darauf befindliche Plaque jeweils in 1ml 0,9 %ige physiologische Kochsalzlösung ausgeschwemmt. Dazu wurde die Kochsalzlösung mit einer sterilen Einmalpipette in ein steriles Reagenzglas (10 ml) gegeben und der Tupfer in der Kochsalzlösung ca. eine Minute geschwenkt, um möglichst alle Bakterien in die Lösung zu bringen.

Mit einer standardisierten, sterilen Einmalöse (Loop 10 µl, Tyco Healthcare Group LP, USA) wurden 10 µl der 1 ml Kochsalz-Bakterien-Suspension einer Katze auf zwei Blutagar-Platten aufgetragen. Die Suspension wurde dann mit einem sterilen Drygalski-Glasspatel auf dem Nährboden in kreisenden Bewegungen ausgespatelt.

Jeweils eine der beiden Platten wurde aerob bei + 37°C im Brutraum für 48 Stunden inkubiert. Für die andere Platte mit der gleichen Keimsuspension wurde ein anaerobes Milieu mit-

tels AnaeroGen Beutel (AN 25, OXOID, England) und Anaerobiertopf (2,5 l, OXOID, England) geschaffen. Die Bebrütung erfolgte ebenso bei + 37°C. Die Bebrütungsdauer betrug 72 Stunden.

#### 4.5.5.2 Papierspitzen-Proben

Die unter anaeroben Bedingungen im Rosenow-Bouillion kühl gelagerten Papierspitzen mit den Proben aus dem gingivalen Sulcus wurden innerhalb von 24 Stunden nach Probenentnahme aus dem Anaerobiertopf genommen und mittels erhitztem Paraffin luftdicht verschlossen.

Die anaerob verschlossenen Rosenow-Gefäße wurden anschließend im Brutraum bei + 37°C für 72 Stunden bebrütet. Danach wurde der Paraffinpropfen durch lokales Erhitzen über dem Bunsenbrenner angeschmolzen, bis er sich mit einem sterilen Einmaltupfer an den Boden des Rosenow-Gefäßes schieben ließ. Mit einer standardisierten, sterilen Einmalöse wurden dann 10 µl aus der Rosenow-Bouillion auf zwei Blutagarplatten verbracht und mit einem sterilen Drygalskispatel auf dem Agar in kreisenden Bewegungen verteilt.

Die Bebrütung der Platten erfolgte wie bei den Tupferproben beschrieben (Kapitel 3.5.5.2.1) unter aeroben und anaeroben Bedingungen.

#### 4.5.5.3 Beurteilung der Kulturen und Anfertigen von Reinkulturen

Die auf den Nährböden gewachsenen Kolonien von Tag 0 und Tag 28 der jeweiligen Versuche wurden zum späteren Vergleich mittels einer Digitalkamera fotografisch festgehalten. In

Abbildung 17 sind die insgesamt vier Platten, die pro Katze und Tag angelegt worden waren, dargestellt.

Bei den Kulturen von Tag 0 wurden Morphologie, Pigmentierung, Hämolyseverhalten, Schwärmverhalten und Sauerstoffanspruch der gewachsenen Kolonien mit den Fotografien des im vorangegangenen Versuch von Gorrissen (2004) erhobenen Grundstatus verglichen. Bei Abweichungen von diesen Parametern hätte eine gezielte Subkultivierung und Differenzierung der entsprechenden Kolonien erfolgen können.

Bei den Kulturen von Tag 28 wurden die einzelnen Bakterienkolonien nach Morphologie, Pigmentierung, Hämolysebildung, Konsistenz, Schwärmverhalten und Sauerstoffanspruch zusätzlich aus der Kultur isoliert und subkultiviert, um die Keime zur Differenzierung in Rein-



kultur vorliegen zu haben. Dazu wurden die unterschiedlichen Kolonien einzeln mit der Impfnadel oder Impföse vom Nährboden abgenommen und separat auf einem neuen Blutagar mittels Drei-Ösen-Ausstrich aufgetragen. Subkulturen von anaerob inkubierten Platten wurden auf zwei Blutagarplatten ausgestrichen.



**Abbildung 17: Zur Beurteilung und Subkultivierung herangezogene Kulturplatten einer Katze**

Die Inkubation erfolgte für Subkulturen von aeroben Platten bei + 37 °C über 48 h. Eine der Subkulturen von anaeroben Platten wurde unter den gleichen Bedingungen bebrütet, während die andere unter anaeroben Bedingungen über 72 Stunden bei + 37 °C inkubiert wurde. Zur Schaffung einer anaeroben Atmosphäre wurden wiederum Gaspack und Anaerobiertöpfe verwendet.

Lagen die Keime nach der Bebrütung nicht in Reinkultur vor, so wurden sie erneut nach dem obigen Schema isoliert, subkultiviert und bebrütet.

#### 4.5.5.4 Bakteriendifferenzierung

Von allen Reinkulturen wurden Gram-Präparate angefertigt. Die Keime wurden unter dem Lichtmikroskop bei 1000 facher Vergrößerung mit einem Tropfen Immersionsöl in gram-positive oder gram-negative Kokken oder Stäbchen mit oder ohne Sporenbildung eingestuft.

##### 4.5.5.4.1 optische Differenzierung

Bei einigen Reinkulturen konnte allein durch ihre typische Morphologie, Pigmentierung, Konsistenz, ihren Geruch oder ihr Schwärmverhalten in Verbindung mit ihrem Gram-präparat eine Einteilung in Keimgruppen vorgenommen werden. Tabelle 10 erläutert diese erste Einteilung.

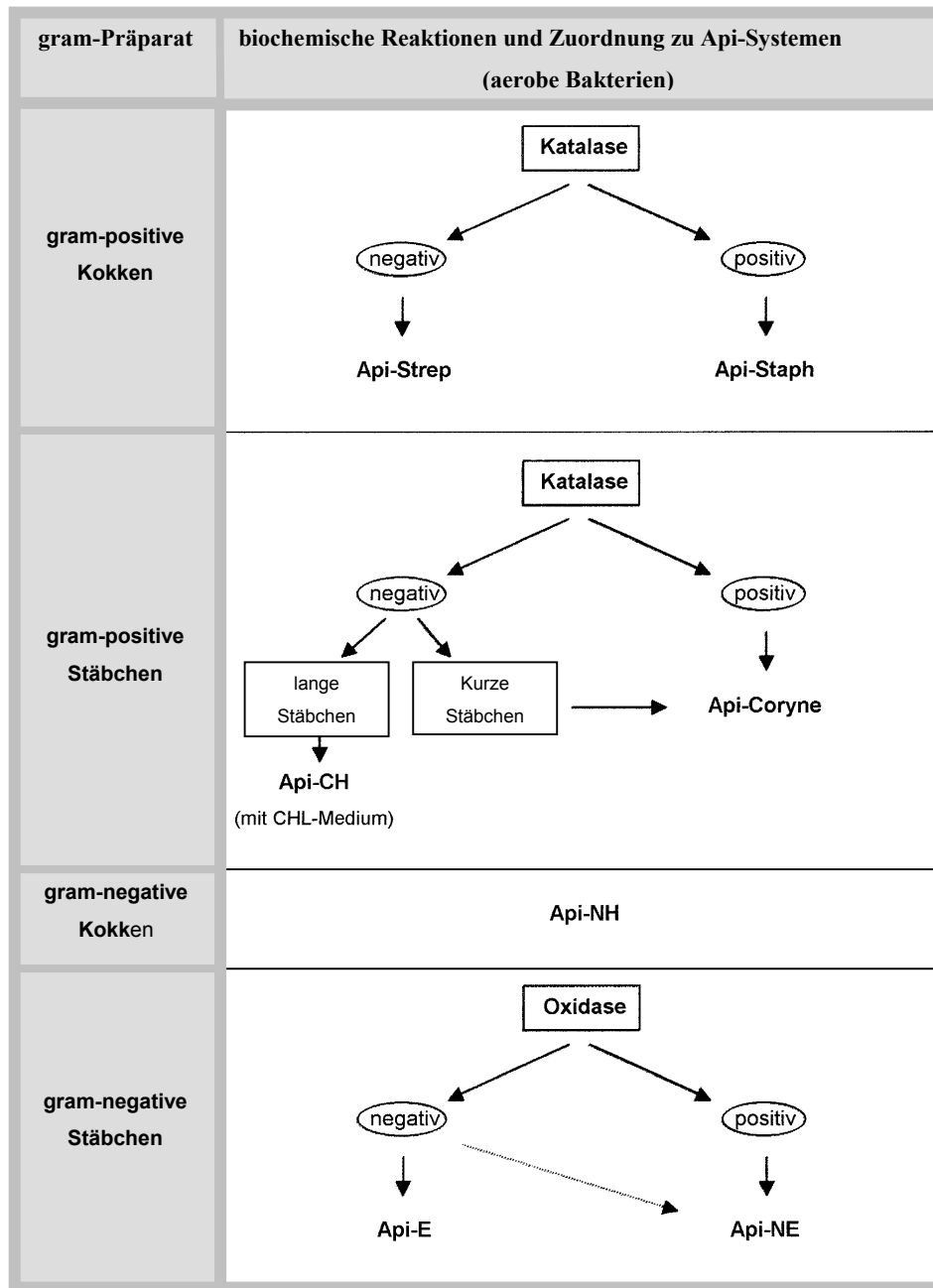
**Tabelle 10: Einteilung einiger Reinkulturen in Keimgruppen nach Gram-Färbung und Wachstum auf Blutagar.**

Verhalten im Grampräparat	Wachstum auf Blutagar		Keimgruppe
große, gram-positive Kokken in unregelmäßigen Haufen	weißliche bis gelbe, große und glänzende Kolonien	wachsen a- und anaerob	<b>Staphylokokken</b>
		wachsen nur aerob	<b>Mikrokokken</b>
gram-positive Kokken in Zweiergruppen oder als Ketten	weiße bis graue, kleine Kolonien, meist mit $\alpha$ - oder $\beta$ -Hämolyse		<b>Streptokokken</b>
gram-positive Stäbchen	weiße, kleine, z.T. raue Kolonien, ohne Hämolyse		<b>Corynebakterien</b>
große, gram-positive Stäbchen z.T. mit Sporenbildung	weiße Kolonien unterschiedlicher Größe mit rauher Oberfläche		<b>Aerobe Sporenbildner</b>
gram-negative Kokken oft in Zweiergruppen	kleine Kolonien, z.T. wachsartig, wachsen nur aerob		<b>Nesseriaceae</b>
gram-negative Kokken	wachsen nur anaerob		<b>Veillonellaceae</b>
gram-negative kokkoide Stäbchen	glatte, glänzende konvexe Kolonien, teilweise schleimig, graue bis gelbliche Pigmentierung, wachsen aerob und anaerob. typischer stechender, säuerlicher Geruch		<b>Pasteurellen</b>

4.5.5.4.2 biochemische Differenzierung

Um eine genaue Differenzierung bei allen Reinkulturen zu erreichen, wurden die stoffwechselphysiologischen Eigenschaften der verschiedenen Bakterien genutzt.

Tabelle 11: Schema zur Auswahl der Api-System für die biochemische Differenzierung der Bakterien



Zunächst wurden zwei Enzyme der Atmungskette - Katalase und Zytochromoxidase - überprüft. Zum Nachweis der Katalase wurde eine 3%ige Wasserstoffperoxid-Lösung auf einen

Objektträger getropft. In diesem Tropfen wurde eine Kolonie der zu überprüfenden Reinkultur mit einer abgeflamten Öse verrieben. Bei Vorhandensein des Enzyms Katalase entstand eine mehr oder weniger starke Blasenbildung in dem Wasserstoffperoxidtropfen.

Der Zytochromoxidase-Nachweis wurde mittels eines Oxidase-Teststreifen (BBL™ Dry Slide™ Oxidase, Becton, Dickinson and Company, USA) durchgeführt. Auf diesen wurde mittels einer abgeflamten Öse eine Kolonie aus der Reinkultur aufgetragen und verrieben. Entstand innerhalb von 30 Sekunden eine intensive Blaufärbung der aufgetragenen Kolonie, war die Kultur Zytochromoxidase-positiv.

Durch diese zwei Enzyme, dem Gram-Präparat und dem kulturellen Verhalten, wodurch eine Gruppen-Identifizierung der jeweiligen Bakterien ermöglicht wurde, konnten die Reinkulturen - wie in Abbildung 10 dargestellt - einem passenden industriell hergestellten biochemischen Testsystem zugeordnet werden. Gewählt wurden api®-Systeme (bioMérieux sa, France), von denen ID 32 Staph (REF 32 500), api® Strep (REF 20 400), api® Coryne (REF 20 900), api® NH (REF 10 400), api® 20 NE (REF 20 050), api® 20 E (REF 20 100), api® a (REF 20 300) und api® 50 CH (REF 50 300) zur Differenzierung herangezogen wurden. Die Auswertung der Testsysteme erfolgte durch das zugehöriges Computerprogramm APILAB PLUS (©1990, bioMérieux sa, France), das die Identifizierung mittels Angabe der prozentualen Wahrscheinlichkeit bzw. durch die Angabe weiterer Identifizierungsreaktionen unterstützte

#### 4.5.5.4.3 Weitere zur Differenzierung und Bestätigung angewendete Verfahren

Bei einigen Reinkulturen, die schwer zu beurteilen oder zu differenzieren waren, wurden weitere Differenzierungsmethoden angewandt: Slidex® Stah Plus (bioMérieux, SA, France) wurde als Schnelltest zur Differenzierung von Staphylococcus aureus angewandt. Bactident® (Merck KgaA, Darmstadt) diente dem Nachweis der L-Alanin-Aminopeptidase und damit der Feststellung gram-negativer bzw. gram-positiver Keime, wenn diese sich in der Gram-Färbung nicht klar darstellten.

Mit einem Tropfen Phosphatase auf eine Kolonie, bei der der Verdacht auf Clostridium perfringens durch Gram-Präparat und Morphologie bestand, konnte bei brauner Verfärbung der Kolonie der Verdacht bestätigt werden.

Das biochemische Testsystem RapID ANA II System (Apogent™ remel, USA) wurde benutzt, um Anaerobier zu differenzieren oder zu bestätigen, die mit dem api® a-System nicht sicher differenziert werden konnten.

In einzelnen, unklaren Fällen wurde eine PCR zur Differenzierung der Bakterienspezies durch das PCR-Labor am LGL durchgeführt.

#### 4.5.5.5 In-Vitro Hemm-Versuch

##### 4.5.5.5.1 Vorbereitung der Nährböden für den Hemmversuch

Für die Hemmtests mit Natrium Ascorbyl Monophosphat und Lactoferrin in Kombination mit EGCG wurden Blutagarplatten als Nährböden gewählt. Die Kombination mit EGCG und Lactoferrin wurde zusätzlich auf Müller-Hinton-Agar (Oxoid) getestet.

Auf den Platten wurde mittels eines sterilen Einmaltupfers Keimsuspensionen der Tupferproben von Tag 28 ausgestrichen.

Mit einem abgeflammtem Reagenzglas ( $\varnothing$  1,0 cm) wurde in der Mitte der Nährböden Löcher ausgestanzt.

##### 4.5.5.5.2 Vitamin C (Natrium Ascorbyl Monophosphat)

Es wurde die Menge an Natrium Ascorbyl Monophosphat getestet, die einer Katze pro Fütterung zur Verfügung stand. Dazu wurde der Gehalt pro kg Futter, nämlich 2340 mg, auf eine Futterportion von durchschnittlich 45 g umgerechnet. Es ergab sich ein Wert von 105,5 mg Natrium Ascorbyl Monophosphat pro Ration. Anschließend wurden 1055 mg Vitamin C abgewogen und in 1 ml destilliertem Wasser gelöst. Jeweils 100  $\mu$ l dieser Lösung wurden in die Mitte von zwei vorbereiteten Blutagars mit einer Eppendorf-Pipette verteilt. So konnte genau die Menge an Vitamin C auf den Agar aufgebracht werden, die in einer Futterration enthalten war. Anschließend wurden drei Verdünnungsstufen in Zehnerpotenzen von der ersten Vitamin C-Lösung angefertigt und wie oben auf die vorbereiteten Nährböden aufgebracht. Pro Verdünnung wurden zwei Nährböden angefertigt.

Einer der beiden Nährböden wurde jeweils unter aeroben Bedingungen bebrütet. Für den anderen Nährboden wurde eine anaerobe Atmosphäre mittels Gaspak und Anaerobiertopf geschaffen. Die Inkubation erfolgte für Aerobier bei 37°C für 48 Stunden. Die Anaerobier wurden für 72 Stunden bei 37 °C bebrütet.

Nach der Bebrütung wurden die bewachsenen Nährböden beurteilt. Es wurde die Größe der Hemmhöfe mit einem Lineal gemessen, sowie das Wachstum der Kolonien nach Stärke und Vielfalt beurteilt.

##### 4.5.5.5.3 Lactoferrin und EGCG

Der Hemmtest für Lactoferrin und EGCG erfolgte ebenso wie der Hemmversuch mit Vitamin C. Allerdings betrug die Menge an EGCG und Lactoferrin jeweils 300 mg pro kg Futter. Das

ergab pro Ration jeweils 13,5 mg EGCG bzw. 13,5 mg Lactoferrin. Die erste Lösung wurde dann mit 135 mg EGCG und 135 mg Lactoferrin in 1ml destilliertem Wasser hergestellt. Die anschließende Durchführung des Hemmversuchs entsprach dem Versuch mit Vitamin C, außer dass neben jeder Blutagarplatte jeweils zusätzlich eine Müller-Hinton-Platte angelegt wurde, die unter den gleichen Bedingungen bebrütet wurde.

#### **4.6 Rechtliche Bestimmungen**

In Übereinstimmung mit den gesetzlichen Vorgaben, enthalten im Tierschutzgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 25. Mai 1998, wurde für die Fütterungsstudie eine Genehmigung von Eingriffen und Behandlungen an Tieren zu wissenschaftlichen Zwecken von der Regierung Oberbayern erteilt.

#### **4.7 Statistische Auswertung**

Bei der Zusammenfassung mehrerer Einzelwerte wurden die arithmetischen Mittelwerte berechnet und die Standardabweichung als Mass der Streuung ermittelt.

Die Auswertung der in diesem Versuch erhaltenen Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SigmaStat 3.0 .

Bestimmt wurden die Unterschiede von Versuchsbeginn zu Versuchsende innerhalb der jeweiligen Gruppe sowie zwischen den Gruppen zu Versuchsbeginn und Ende. Dazu wurde der Wilcoxon Rang Sum Test verwendet.

Das Signifikanzniveau wurde mit  $p < 0,05$  angegeben.

## D Ergebnisse

### 1 Vitamin C – Versuch

#### 1.1 Versuchstiere

Die 18 in der Fütterungsstudie eingesetzten Katzen waren vor und während des Versuchs mit Vitamin C gesund. Auch während der wash-out Phase zeigten alle Versuchstiere ein ungestörtes Allgemeinbefinden. Die vor, während und nach der Studie durchgeführten klinischen Untersuchungen erbrachten keine Anzeichen auf eine Erkrankung der Tiere. Die Resultate der Blutuntersuchungen sind in Kapitel D 1.3.1 angegeben.

In Tabelle 12 ist die Gewichtsentwicklung der 18 Katzen während des Vitamin C-Versuchs dargestellt. In beiden Gruppen zeigte sich eine geringgradige Gewichtszunahme von Tag 0 auf Tag 28.

**Tabelle 12: Durchschnittliches Gewicht in kg der Katzen der Kontroll- und der Vitamin-C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28**

	Kontrollgruppe		Vitamin C-Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>Gewicht in kg</b>	4,4 ± 1,1	4,5 ± 1,1	4,0 ± 1,1	4,3 ± 1,0

#### 1.2 Maulhöhlenparameter

##### 1.2.1 Halitosis

Die an Tag 0 und Tag 28 durchgeführte Atemgeruchsmessung mittels Halimeter, bei der die Schwefelkomponenten in der Atemluft in ppm gemessen wurden, zeigte bei der Kontrollgruppe und auch bei der Vitamin C-Gruppe im Mittel einen nicht signifikanten Anstieg von Tag 0 auf Tag 28. Dieser Anstieg betrug bei der Kontrollgruppe 0,98 ppm und bei der Vitamin C-Gruppe 8,16 ppm. Die Ausgangswerte der Schwefelkomponenten beider Gruppen an Tag 0 unterscheiden sich nicht signifikant um 7,06 ppm, wobei die Kontrollgruppe den nied-

rigeren Wert aufwies. Auch der Vergleich der Differenzen beider Gruppen zwischen Tag 0 und Tag 28 ergab keinen signifikanten Unterschied. In Tabelle 13 sind die Durchschnittswerte der 3 Messungen der jeweiligen Gruppen angegeben.

**Tabelle 13: Vergleich der mittels Halimeter durchgeführten durchschnittlichen Halitosismessung (Schwefelkomponenten in ppm) der Kontroll- und der Vitamin C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28, sowie Vergleich der Messungen an Tag 0 und Tag 28 innerhalb der Gruppen**

Schwefelkomponenten in der Atemluft in ppm	Kontrollgruppe		Vitamin C-Gruppe	
	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28
Mittel der 3 Messungen	62,74 ± 23,32	63,72 ± 18,23	54,80 ± 8,27	63,41 ± 15,47

Die organoleptisch durchgeführte Halitosismessung, die auf einer Skala von 0 (keine Halitosis) bis 3 (starke Halitosis) bewertet wurde, ergab in der Kontrollgruppe keinen wesentlichen Unterschied. In der Vitamin C-Gruppe zeigt sich eine Zunahme der Halitosis um 26 Prozent. Die einzelnen Werte sind Tabelle 14 zu entnehmen.

**Tabelle 14: Vergleich der organoleptischen Halitosismessung der Kontroll- und der Vitamin-C-Gruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppe an Tag 0 und Tag 28, bewertet auf einer Skala von 0 (keine Halitosis) bis 3 (starke Halitosis)**

Halitosis (organoleptisch)	Kontrollgruppe		Vitamin C-Gruppe	
	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28
Messung	1,39 ± 0,49	1,39 ± 0,42	1,28 ± 0,36	1,61 ± 0,49

### 1.2.2 Gingivitisindex

Der Gingivitis Index (GI) wurde auf einer Skala von 0 bis 3 an Tag 0 und Tag 28 bewertet. Wobei 0 für keine Gingivitis und 3 für schwere Gingivitis eingesetzt wurde. Die durchschnitt-



lichen Werte des Gingivitisindex zu Tag 0 und Tag 28 für die einzelnen Zähne und die Maulhöhle insgesamt sind in Tabelle 15 aufgeführt.

**Tabelle 15: Vergleich des durchschnittlichen Gingivitisindex (GI) der einzelnen Zähne und des Gesamtgingivitisindex der Kontroll- und der Vitamin-C-Gruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppe an Tag 0 und Tag 28 bewertet auf einer Skala von 0 (keine Gingivitis) bis 3 (schwere Gingivitis)**

Gingivitisindex (GI)	Kontrollgruppe		Vitamin C-Gruppe	
	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28
<b>GI 204</b>	0,19 ± 0,32	0,63 ± 0,33 <sup>#</sup>	0,56 ± 0,38	0,65 ± 0,44*
<b>GI 207</b>	0,37 ± 0,27	0,69 ± 0,38	0,74 ± 0,44	0,70 ± 0,42
<b>GI 208</b>	0,70 ± 0,51	0,83 ± 0,24	0,65 ± 0,27	0,89 ± 0,55
<b>GI 304</b>	0,59 ± 0,60	0,91 ± 0,50	0,67 ± 0,69	0,76 ± 0,56
<b>GI 308</b>	0,20 ± 0,25	0,24 ± 0,26	0,35 ± 0,27	0,17 ± 0,33
<b>GI 309</b>	0,44 ± 0,37	0,43 ± 0,34	0,65 ± 0,64	0,31 ± 0,39
<b>GI 104</b>	0,69 ± 0,71	0,85 ± 0,45	0,54 ± 0,37	0,63 ± 0,34
<b>GI 107</b>	0,56 ± 0,54	0,70 ± 0,32	0,37 ± 0,30	0,74 ± 0,41 <sup>#</sup>
<b>GI 108</b>	0,67 ± 0,39	0,83 ± 0,32	0,52 ± 0,39	0,72 ± 0,46
<b>GI 404</b>	0,19 ± 0,18	0,46 ± 0,30 <sup>#</sup>	0,65 ± 0,70	0,72 ± 0,58
<b>GI 408</b>	0,24 ± 0,17	0,22 ± 0,31	0,24 ± 0,34	0,09 ± 0,22
<b>GI 409</b>	0,31 ± 0,33	0,39 ± 0,31	0,44 ± 0,38	0,13 ± 0,23*
<b>GI gesamt</b>	0,47 ± 0,23	0,60 ± 0,17	0,53 ± 0,27	0,54 ± 0,21

<sup>#</sup>signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) innerhalb einer Gruppe zwischen den Tagen 0 und 28

\*signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen der Kontroll- und Vitamin C-Gruppe (Prüfgröße Delta Tag 0-28)

Der Gesamtgingivitisindex der Vitamin C-Gruppe an Tag 0 war um 13 Prozent höher als der Gesamtgingivitisindex der Kontrollgruppe an Tag 0. Eine Erhöhung des Gesamtgingivitisindex um 28 Prozent zeigte sich von Tag 0 auf Tag 28 bei der Kontrollgruppe. Während sich bei der Vitamin C-Gruppe für den Gesamtgingivitisindex kein wesentlicher Unterschied von Tag 0 auf Tag 28 ergab.

Bei den einzeln bewerteten Zähnen zeigten sich an einigen Zähnen bei der Kontroll- und Vitamin C-Gruppe signifikante Unterschiede von Tag 0 auf Tag 28. Innerhalb der Kontrollgruppe erhöhte sich der Gingivitisindex im Mittel bei zwei Zähnen signifikant und zwar am Cani-

nus im rechten Unterkiefer (404) um mehr als das doppelte und am Caninus im linken Oberkiefer (204) um mehr als das dreifache. Bei der Vitamin C-Gruppe zeigte 1 Zahn im Durchschnitt eine signifikante Verschlechterung des Gingivitisindex. Der durchschnittliche Index des Prämolaren 3 im rechten Oberkiefer (107) erhöhte sich um das doppelte. Der durchschnittliche Index des Molaren 1 im rechten Unterkiefer (409) der Vitamin C-Gruppe verringerte sich von Tag 0 auf Tag 28 um 31 Prozent. Dieser Unterschied lag mit einem p-Wert von 0,057 nur knapp über dem als signifikant zu bezeichnenden Bereich.

Beim Vergleich der Differenzen von Tag 0 auf Tag 28 zwischen den beiden Gruppen ergaben sich bei zwei Zähnen signifikante Unterschiede. Der Gingivitisindex erhöhte sich am Caninus im linken Oberkiefer (204) bei der Kontrollgruppe von Tag 0 auf Tag 28 um mehr als das doppelte und bei der Vitamin C-Gruppe nur um 16 Prozent. Am Molaren 1 im linken Unterkiefer (409) erhöhte sich der Gingivitisindex innerhalb der Kontrollgruppe von Tag 0 auf Tag 28, bei der Vitamin C-Gruppe verringerte er sich. Daraus ergab sich ebenfalls ein signifikanter Unterschied.

### **1.2.3 Sondierungstiefe**

Die Sondierungstiefe (PD), gemessen in mm, wurde bei der Kontroll- und der Vitamin C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 bestimmt. Tabelle 16 gibt eine Übersicht über die durchschnittliche Sondierungstiefe der einzelnen Zähne und der gesamten Maulhöhle der beiden Gruppen zu Tag 0 und Tag 28.

Die Gesamtsondierungstiefe der Vitamin C-Gruppe an Tag 0 war um 0,06 mm tiefer als die der Kontrollgruppe. Von Tag 0 auf Tag 28 verringerte sich die Gesamtsondierungstiefe innerhalb der Kontrollgruppe um 5 Prozent und innerhalb der Vitamin C-Gruppe um 7 Prozent.

Am Molaren 1 im linken Unterkiefer (309) der Vitamin C-Gruppe war von Tag 0 auf Tag 28 eine signifikante Abnahme der Sulcustiefe festzustellen. Für diesen Zahn ergab sich auch ein signifikanter Unterschied beim Vergleich der Differenzen von Tag 0 zu Tag 28 der beiden Gruppen. Bei der Kontrollgruppe nahm die Sondierungstiefe an diesem Zahn um durchschnittlich 0,05 mm zu, während sie sich bei der Vitamin C-Gruppe im Durchschnitt um 0,65 mm verringerte.

**Tabelle 16: Vergleich der durchschnittlichen Sondierungstiefe (PD) in mm der einzelnen Zähne und der durchschnittlichen Gesamtsondierungstiefe der Kontroll- und der Vitamin-C-Gruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppe an Tag 0 und Tag 28**

Sondierungstiefe (PD)	Kontrollgruppe		Vitamin C-Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>PD 204</b>	0,57 ± 0,24	0,72 ± 0,12	1,13 ± 0,61	1,19 ± 0,66
<b>PD 207</b>	0,89 ± 0,37	0,78 ± 0,46	0,89 ± 0,43	0,98 ± 0,35
<b>PD 208</b>	1,13 ± 0,59	1,30 ± 0,56	1,39 ± 0,92	0,98 ± 0,35
<b>PD 304</b>	1,04 ± 0,82	0,91 ± 0,85	1,19 ± 0,90	1,50 ± 1,13
<b>PD 308</b>	0,22 ± 0,38	0,30 ± 0,26	0,50 ± 0,40	0,22 ± 0,33
<b>PD 309</b>	0,39 ± 0,47	0,44 ± 0,51	0,87 ± 0,97	0,22 ± 0,22* #
<b>PD 104</b>	1,94 ± 2,08	1,57 ± 1,16	1,15 ± 0,36	1,35 ± 0,96
<b>PD 107</b>	1,00 ± 0,28	0,98 ± 0,30	0,91 ± 0,24	0,85 ± 0,26
<b>PD 108</b>	1,20 ± 0,46	1,35 ± 0,51	1,28 ± 0,32	1,22 ± 0,34
<b>PD 404</b>	0,50 ± 0,46	0,57 ± 0,62	1,35 ± 1,39	1,04 ± 1,27
<b>PD 408</b>	0,13 ± 0,18	0,13 ± 0,14	0,22 ± 0,24	0,19 ± 0,24
<b>PD 409</b>	0,30 ± 0,25	0,31 ± 0,19	0,41 ± 0,33	0,30 ± 0,30
<b>PD gesamt</b>	0,87 ± 0,49	0,83 ± 0,22	0,93 ± 0,37	0,85 ± 0,32

# signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) innerhalb einer Gruppe zwischen den Tagen 0 und 28

\* signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen der Kontroll- und Vitamin C-Gruppe (Prüfgröße Delta Tag 0-28)

## 1.2.4 Plaqueindex

An Tag 28 wurde der Plaqueindex (PI) angegeben als Produkt der Bedeckung der Zahnoberfläche mit Plaque und der Dicke des Plaquebelags. Die Bedeckung wurde auf einer Skala von 0 bis 4 bewertet, wobei 0 für keine Plaque und 4 für mehr als  $\frac{3}{4}$  der Zahnoberfläche mit Plaque bedeckt stand. Die Dicke wurde auf einer Skala von 0 bis 3 beurteilt. 0 stand für keinen, 3 für dicken Belag. An Tag 0 wurden die Zähne der Kontroll- und der Vitamin C-Gruppe gereinigt, so dass sämtliche Plaque entfernt wurde und der Plaqueindex gleich 0 gesetzt wurde. Bei der statistischen Auswertung wurden deshalb auch nur die beiden Gruppen an Tag 28 verglichen.

Tabelle 17 gibt eine Übersicht über den durchschnittliche Plaqueindex der einzelnen Zähne und der gesamten Maulhöhle der beiden Gruppen.

**Tabelle 17: Vergleich des durchschnittlichen Plaqueindex (PI) der einzelnen Zähne und des durchschnittlichen Gesamtplaqueindex der Kontroll- und der Vitamin-C-Gruppe an Tag 28 angegeben als Produkt der Bedeckung der Zahnoberfläche (0 = keine Plaque bis 3 = über ¾ der Zahnoberfläche mit Plaque bedeckt) und Dicke des Belags (0 = keine Plaque bis 3 = dicker Belag)**

Plaqueindex (PI)	Kontrollgruppe		Vitamin C-Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>PI 204</b>	0 ± 0	11,00 ± 5,02	0 ± 0	12,89 ± 5,11
<b>PI 207</b>	0 ± 0	9,44 ± 6,19	0 ± 0	10,78 ± 4,60
<b>PI 208</b>	0 ± 0	15,78 ± 2,68	0 ± 0	9,78 ± 3,53***
<b>PI 304</b>	0 ± 0	7,00 ± 4,33	0 ± 0	3,44 ± 3,43
<b>PI 308</b>	0 ± 0	7,56 ± 5,61	0 ± 0	4,78 ± 2,39
<b>PI 309</b>	0 ± 0	12,78 ± 3,60	0 ± 0	6,56 ± 2,92**
<b>PI 104</b>	0 ± 0	11,89 ± 5,73	0 ± 0	8,00 ± 4,15
<b>PI 107</b>	0 ± 0	11,11 ± 5,69	0 ± 0	11,44 ± 7,42
<b>PI 108</b>	0 ± 0	19,33 ± 2,83	0 ± 0	11,00 ± 5,59**
<b>PI 404</b>	0 ± 0	6,22 ± 2,95	0 ± 0	4,44 ± 2,55
<b>PI 408</b>	0 ± 0	8,67 ± 3,97	0 ± 0	6,00 ± 4,95
<b>PI 409</b>	0 ± 0	13,22 ± 2,11	0 ± 0	8,78 ± 5,63*
<b>PI gesamt</b>	0 ± 0	11,17 ± 3,81	0 ± 0	8,16 ± 3,10*

\* signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen der Kontroll- und Vitamin C-Gruppe

\*\* signifikanter Unterschied ( $p < 0,005$ ) zwischen der Kontroll- und Vitamin C-Gruppe

\*\*\* signifikanter Unterschied ( $p < 0,001$ ) zwischen der Kontroll- und Vitamin C-Gruppe

Zwischen Kontroll- und Vitamin C-Gruppe ergab sich für den Gesamtplaqueindex ein signifikanter Unterschied. Dabei war der Gesamtplaqueindex der Vitamin C-Gruppe 20 Prozent niedriger als der Index der Kontrollgruppe.

Bei den einzeln bewerteten Zähnen zeigten sich an Tag 28 ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und Vitamin C-Gruppe. Die Indices der Prämolaren 4 im linken und rechten Oberkiefer (208 und 108) und der Molaren 1 im linken und rechten Unterkiefer (409 und 309) der Vitamin C-Gruppe waren signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe. Für den Caninus im linken Unterkiefer (304) ergab sich beim Vergleich der beiden Gruppen ein fast

signifikanter Unterschied bei einem p-Wert von 0,052. Im Gegensatz dazu ergab sich bei der Kontrollgruppe beim Plaqueindex kein signifikant niedrigerer Wert im Vergleich zur Vitamin C-Gruppe.

### 1.2.5 Zahnsteinindex

Der Zahnsteinindex (CI) wurde an Tag 28 auf einer Skala von 0 bis 4 beurteilt. Kein Zahnstein wurde mit 0 bewertet, eine über  $\frac{3}{4}$  mit Zahnstein bedeckte Zahnoberfläche mit 4. An Tag 0 wurde bei beiden Gruppen sämtlicher Zahnstein von den Zahnoberflächen entfernt und die Zähne gereinigt, so dass der Zahnsteinindex zu Versuchsbeginn gleich 0 gesetzt werden konnte.

An Tag 28 zeigte die Vitamin C-Gruppe einen um 14 Prozent niedrigeren Gesamtzahnsteinindex als die Kontrollgruppe.

**Tabelle 18: Vergleich des durchschnittlichen Zahnsteinindex (CI) der einzelnen Zähne und des durchschnittlichen Gesamtzahnsteinindex der Kontroll- und der Vitamin-C-Gruppe an Tag 28 bewertet auf einer Skala von 0 (kein Zahnstein) bis 3 (über  $\frac{3}{4}$  der Zahnoberfläche mit Zahnstein bedeckt)**

Zahnsteinindex (CI)	Kontrollgruppe		Vitamin C-Gruppe	
	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28
CI 204	0 ± 0	2,56 ± 1,74	0 ± 0	2,22 ± 0,67
CI 207	0 ± 0	2,11 ± 2,09	0 ± 0	2,00 ± 2,35
CI 208	0 ± 0	5,78 ± 2,33	0 ± 0	4,61 ± 2,69
CI 304	0 ± 0	0,78 ± 0,44	0 ± 0	0,78 ± 0,67
CI 308	0 ± 0	0,33 ± 0,71	0 ± 0	0,44 ± 0,88
CI 309	0 ± 0	1,44 ± 0,73	0 ± 0	1,78 ± 2,17
CI 104	0 ± 0	2,89 ± 2,09	0 ± 0	2,44 ± 1,01
CI 107	0 ± 0	4,22 ± 3,15	0 ± 0	2,11 ± 1,54
CI 108	0 ± 0	5,67 ± 2,24	0 ± 0	5,11 ± 2,67
CI 404	0 ± 0	0,44 ± 0,53	0 ± 0	0,56 ± 0,53
CI 408	0 ± 0	0,11 ± 0,33	0 ± 0	0,67 ± 1,00
CI 409	0 ± 0	1,56 ± 1,24	0 ± 0	1,11 ± 1,36
CI	0 ± 0	1,18 ± 0,43	0 ± 0	1,01 ± 0,51

### **1.2.6 Furkationsindex**

Die Bestimmung des Furkationsindex (FI) ergab bei der Kontroll- und der Vitamin C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des Vitamin C-Versuchs stets 0. Es konnten keine Veränderungen dieses Index während des gesamten Versuchs festgestellt werden.

### **1.2.7 Mobilitätsindex**

Die Bestimmung des Mobilitätsindex (MI) ergab bei der Kontroll- und der Vitamin C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des Vitamin C-Versuchs stets 0. Es konnten keine Veränderungen dieses Index während des gesamten Versuchs festgestellt werden.

## **1.3 Laborbestimmungen**

### **1.3.1 Blutbild**

An Tag 0 und Tag 28 des EGCG/LF –Versuchs wurde das weiße Blutbild mit Leukozyten (WBC), neutrophilen Granulozyten (Neu), Lymphozyten (Lym), Monozyten (Mono), eosinophilen Granulozyten (Eos) und basophilen Granulozyten (Baso) – jeweils angegeben in  $10^9/l$  – bei allen Katzen bestimmt. Zu Versuchsbeginn und -ende lagen alle durchschnittlichen Werte der Leukozyten, der Neutrophilen Granulozyten, der Lymphozyten und der basophilen Granulozyten der Kontroll- und der Vitamin C-Gruppe in den von Kraft und Dürr (1999) angegebenen Referenzbereichen. Der durchschnittliche Wert der Monozyten der Kontrollgruppe lag an Tag 0 10 Prozent über der oberen Grenze des Referenzbereiches. An Tag 28 befand er sich allerdings wieder im Normbereich. Bei der Vitamin C-Gruppe lag der durchschnittliche Wert der Monozyten an Tag 0 im Referenzbereich und war an Tag 28 um 88 Prozent über dem Referenzbereich.

Bei fast allen Katzen zeigte sich eine Eosinophilie. Der durchschnittliche Wert der eosinophilen Granulozyten lag je nach Gruppe zwischen 38 bis 58 Prozent über dem oberen Wert des Referenzbereichs.

Die Gruppenwerte des weißen Blutbildes der Kontroll- und der Vitamin C-Gruppe zu Versuchsbeginn und Versuchsende sind in Tabelle 19 dargestellt.

**Tabelle 19: Weißes Blutbild mit Leukozyten (WBC), neutrophilen Granulozyten (Neu), Lymphozyten (Lym), Monozyten (Mono), eosinophilen Granulozyten (Eos) und basophilen Granulozyten (Baso) der Kontrollgruppe und der Vitamin C-Gruppe während des Vitamin C-Versuchs an Tag 0 und Tag 28, jeweils angegeben in  $10^9/l$**

weißes Blutbild	Kontrollgruppe		Vitamin C-Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>WBC (<math>10^9/l</math>)</b>	10,89 ± 4,37	10,82 ± 5,84	7,84 ± 2,45	10,10 ± 3,03
<b>Neu (<math>10^9/l</math>)</b>	6,41 ± 3,48	6,62 ± 4,35	3,93 ± 2,21	5,12 ± 3,04
<b>Lym (<math>10^9/l</math>)</b>	3,19 ± 1,68	2,98 ± 1,50	2,68 ± 0,80	3,29 ± 0,88
<b>Mono (<math>10^9/l</math>)</b>	0,55 ± 0,23	0,49 ± 0,33	0,49 ± 0,25	0,85 ± 1,02
<b>Eos (<math>10^9/l</math>)</b>	0,70 ± 0,43	0,69 ± 0,37	0,69 ± 0,40	0,79 ± 0,33
<b>Baso (<math>10^9/l</math>)</b>	0,04 ± 0,04	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,04	0,07 ± 0,04

Die Resultate des roten Blutbildes (Tabelle 20) entsprachen bei beiden Gruppen an Tag 0 und Tag 28 des Vitamin C-Versuchs den in Kraft und Dürr (1999) angegebenen Referenzbereichen.

**Tabelle 20: Rotes Blutbild mit Erythrozyten (RBC in  $10^{12}/l$ ), Hämoglobin (Hgb in mmol/l), Hämatokrit (Hct in l/l), Mittleres Erythrozytenvolumen (MCV in fl), Mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerthrozyten (MCH in fmol), Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC in mmol/l) der Kontroll- und Vitamin C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des Vitamin C-Versuchs**

rotes Blutbild	Kontrollgruppe		Vitamin C-Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>RBC (<math>10^{12}/l</math>)</b>	9,18 ± 1,04	9,92 ± 1,01	9,09 ± 0,97	9,50 ± 0,62
<b>Hgb (mmol/l)</b>	7,77 ± 0,98	8,24 ± 0,98	7,80 ± 0,76	8,11 ± 0,45
<b>Hct (l/l)</b>	0,38 ± 0,05	0,42 ± 0,04	0,38 ± 0,04	0,40 ± 0,02
<b>MCV (fl)</b>	41,08 ± 2,12	42,36 ± 1,18	42,04 ± 1,84	42,47 ± 1,60
<b>MCH (fmol)</b>	0,85 ± 0,04	0,84 ± 0,05	0,86 ± 0,03	0,86 ± 0,03
<b>MCHC (mmol/l)</b>	20,63 ± 0,62	19,83 ± 0,79	20,47 ± 0,60	20,14 ± 0,52
<b>PLT (<math>10^9/l</math>)</b>	276,88 ± 79,77	162,28 ± 49,85	284,00 ± 149,13	205,53 ± 111,46

### 1.3.2 Leber-, Nieren- und Fruktosaminwerte

1. Zu Versuchbeginn und zum Versuchsende wurden die Leber-, Nieren- und Fruktosaminwerte bestimmt. Als Referenzbereiche wurden die von Kraft und Dürr (1999) angegebenen Werte herangezogen.

Bei den Leberwerten wurden die Enzyme Aspartat-Amino-Transferase (AST), Alanin-Amino-Transferase (ALT), Alkalische Phosphatase (AP) und Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) zur Bestimmung herangezogen. Sie wurden in U/l angegeben. Alle bestimmten Leberwerte der Kontroll- und der Vitamin C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 lagen innerhalb der Referenzbereiche.

Zur Überwachung der Nierenfunktion wurden Harnstoff (HAST) in mmol/l und Kreatinin (CREA) in  $\mu\text{mol/l}$  bestimmt. Beide Werte der Kontroll- und der Vitamin C-Gruppe lagen am Versuchbeginn und -ende ebenfalls innerhalb der Referenzbereiche.

Auch Fruktosamin, bestimmt in  $\mu\text{mol/l}$ , lag bei Kontroll- und Vitamin C-Gruppe während des Vitamin C-Versuchs stets innerhalb des Referenzbereichs.

Die einzelnen Leber-, Nieren- und Fruktosaminwerte zu Versuchbeginn und Versuchsende sind in Tabelle 21 aufgeführt.

**Tabelle 21: Vergleich der Leberwerte mit Aspartat-Amino-Transferase (AST in U/l), Alanin-Amino-Transferase (ALT in U/l), Alkalische Phosphatase (AP in U/l), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH in U/l) und der Nierenwerte mit Harnstoff (HAST in mmol/l) und Kreatinin (CREA in  $\mu\text{mol/l}$ ) sowie Fructosamin (FRUC in  $\mu\text{mol/l}$ ) der Kontroll- und Vitamin C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des Vitamin C-Versuchs**

	Kontrollgruppe		Vitamin C-Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>AST (U/l)</b>	9,43 $\pm$ 2,23	16,00 $\pm$ 5,66	9,71 $\pm$ 1,25	11,00 $\pm$ 2,83
<b>ALT (U/l)</b>	25,43 $\pm$ 9,93	29,00 $\pm$ 4,24	21,14 $\pm$ 5,73	37,50 $\pm$ 24,75
<b>AP (U/l)</b>	31,71 $\pm$ 5,19	41,00 $\pm$ 4,24	31,29 $\pm$ 8,86	31,00 $\pm$ 5,66
<b>GLDH(U/l)</b>	1,06 $\pm$ 0,39	2,20 $\pm$ 0,28	1,00 $\pm$ 0,24	1,50 $\pm$ 0,42
<b>HAST (mmol/l)</b>	9,27 $\pm$ 0,97	11,02 $\pm$ 1,24	9,30 $\pm$ 0,69	11,01 $\pm$ 0,95
<b>CREA (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	109,14 $\pm$ 15,91	120,11 $\pm$ 13,67	113,14 $\pm$ 8,01	114,25 $\pm$ 7,40
<b>FRUC (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	246,14 $\pm$ 24,27	283,13 $\pm$ 44,82	246,29 $\pm$ 41,72	274,38 $\pm$ 25,97



### 1.3.2 Antioxidativer Status

Der antioxidative Status wurde an Tag 0 und Tag 28 des Vitamin C-Versuchs bei Kontroll- und Vitamin C-Gruppe bestimmt. Die antioxidative Kapazität wurde in Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) angegeben. Sie unterschied sich zu Versuchsbeginn um 12,26 TEAC bei beiden Gruppen, wobei die Kontrollgruppe den höheren Wert aufwies. Bei der Kontrollgruppe verringerte sich die antioxidative Kapazität von Tag 0 auf Tag 28 signifikant um 24 Prozent, während sie sich bei der Vitamin C-Gruppe nur um 2 Prozent verringerte und sich keine Signifikanz ergab.

**Tabelle 22: Antioxidativer Status der Kontroll- und Vitamin-C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des Vitamin C-Versuchs: Vergleich der durchschnittlichen antioxidativen Kapazität in Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) in mmol/l, Vitamin E – in µg/ml, Vitamin C- in µg/ml, Kreatinkinase- (CK) in IU/l und Aspartat-Amino-Transferase-(AST) Konzentration in IU/l**

	Kontrollgruppe		Vitamin C-Gruppe	
	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28
<b>TEAC in mmol/l</b>	67,13 ± 16,42	51,05 ± 14,47 <sup>#</sup>	55,47 ± 12,70	54,52 ± 22,42
<b>Vitamin E in µg/ml</b>	13,0 ± 2,2	12,1 ± 2,9	15,3 ± 5,8	12,5 ± 3,3
<b>Vitamin C in µg/ml</b>	- <sup>o1</sup>	4,3 ± 0,9	- <sup>o1</sup>	5,6 ± 1,0 <sup>#</sup>
<b>CK in IU/l</b>	151 ± 79	276 ± 316	131 ± 81	164 ± 150
<b>AST in IU/l</b>	24 ± 6	18 ± 5	20 ± 4	19 ± 8

<sup>#</sup> signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) innerhalb einer Gruppe zwischen den Tagen 0 und 28

<sup>o1</sup> Messung aus technischen Gründen nicht möglich

Bei den Vitamin E-Werten ergaben sich zu keinem Zeitpunkt weder zwischen den Gruppen noch von Tag 0 auf Tag 28 signifikante Unterschiede.

Beim Vergleich der Vitamin C-Werte an Tag 28 zwischen den beiden Gruppen ergab sich allerdings ein signifikanter Unterschied. Der Vitamin C-Wert der Vitamin C-Gruppe war um 30 Prozent höher als bei der Kontrollgruppe.

Die gemessenen Werte der Kreatinkinase (CK) lagen stets geringgradig über dem von Kraft und Dürr (1999) angegebenen Referenzbereich. Es ergaben sich allerdings zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede.

Die Werte der Aspartat-Amino-Transferase (AST) lagen stets innerhalb der von Kraft und Dürr (1999) angegebenen Referenzbereiche.

Die einzelnen Werte des antioxidativen Status sind in Tabelle 22 dargestellt.

### **1.3.3 Antibakterielle Aktivität**

#### **1.3.3.1 In vivo**

Im Vorversuch (Gorrisen, 2004) wurden 10 Katzen aus den Versuchstieren gewählt, um eine Übersicht über die vorhandene Grundbakterienflora der Maulhöhle der Versuchstiere zu bekommen. Es handelte sich um eine rein qualitative Analyse. Auch die im Folgenden aufgeführten Diagramme zur Veranschaulichung der Prozentualen Verteilung der Bakterienspezies innerhalb der isolierten Gesamtspezies geben kein quantitatives sondern nur qualitatives Ergebnis wieder.

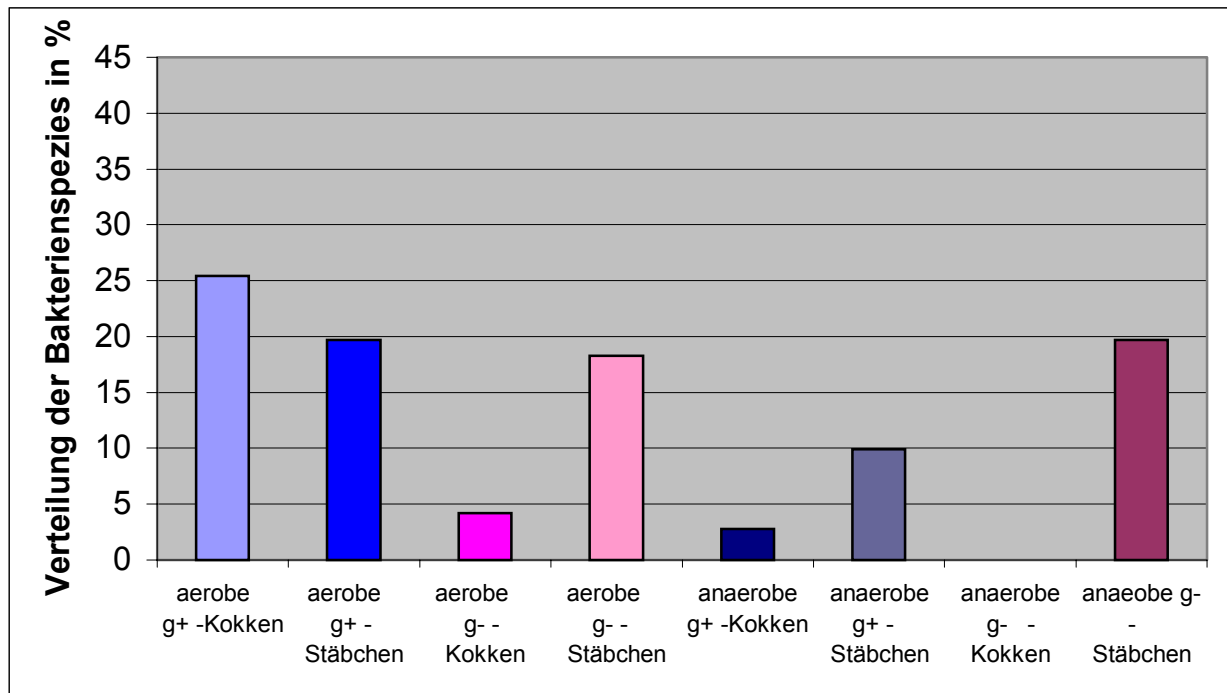
Die verschiedenen Bakterienspezies, die von den 10 Tieren isoliert wurden, sind in Tabelle 23 aufgeführt.

Wie aus Abbildung 18 hervorgeht, wurden überwiegend grampositive, aerobe Kokken aus den Maulhöhlen der 10 Tiere isoliert. Sie machten 24,4 Prozent aller isolierten Keime aus. Jeweils 19,7 Prozent der Flora waren grampositive, aerobe bzw. gram-negative, anaerobe Stäbchen. 18,3 Prozent wurden als gramnegative, aerobe Stäbchen identifiziert. Einen geringeren Anteil an der Flora bildeten grampositive, anaerobe Stäbchen mit 9,9 Prozent, gramnegative, aerobe Kokken mit 4,2 Prozent und grampositive, anaerobe Kokken mit 2,8 Prozent. Gramnegative, anaerobe Kokken wurden bei keinem Tier isoliert.

Insgesamt waren 67,6 Prozent der isolierten Bakterienspezies aerobe und 32,4 Prozent anaerobe Keime. In Tabelle 23 sind die einzelnen Bakterien aufgeführt, die von den 10 Katzen differenziert wurden.

**Tabelle 23: Gram-positive (g+) und gram-negative (g-) Bakterien, die bei insgesamt 10 Katzen aus der Kontroll- und der Wirkstoffgruppe im Vorversuch aus der Maulhöhle isoliert wurden**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	Aeorococcus viridans Gemella morbillorum Kocuria rosea Micrococcus sp. Micrococcus lylae Staphylococcus aureus Staphylococcus chromogenes Staphylococcus epidermidis Staphylococcus haemolyticus Staphylococcus hominis Staphylococcus simulans Staphylococcus sp. Staphylococcus warneri Streptococcus bovis I Streptococcus bovis II Streptococcus suis Streptococcus suis I vergrünende Streptokokken	Streptococcus intermedius Peptostreptococcus sp.
	Stäbchen	Arcanobacterium haemolytica Arthrobacter sp. Bacillus sp. Brevibacterium sp. Cellulomonas sp. Corynebacterium accolens Corynebacterium bovis Corynebacterium propinquum Corynebacterium sp. Corynebacterium ulcerans Listeria grayi Listeria sp. Rothia dentocariosa Streptomyces sp.	Bifidobacterium sp. Clostridium perfringens Eubacterium lentum Lactobacillus acidophilus Propionibacterium acnes Propionibacterium propionicum Propionibacterium sp.
gramnegativ	Kokken	Lautropia sp. Neisseria cinera Neisseria dentiae	
	Stäbchen	Acinetobacter Iwoffii Actinobacillus lignersii Brevundimonas vesicularis Burkholderia cepacia Haemophilus aphrophilus Moraxella catarrhalis Moraxella sp. Pasteurella multocida Pasteurella sp. Pseudomonas fluorescens Pseudomonas stutzeri Sphingomonas paucimobilis Weeksella virosa	Bacteroides capillosus Bacteroides fragilis-Gruppe Bacteroides uniformis Bilophila wadsworthia Campylobacter gracilis Fusobacterium mortiferum Fusobacterium necrophorum Fusobacterium sp. Porphyromonas asaccharolytica Prevotella bivia Prevotella buccae/oris Prevotella melaninogenica/oralis Prevotella sp. Wolinella sp.



**Abbildung 18: Prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, grampositiven (g+) und gram-negativen (g-) Bakterienspezies aus der Maulhöhle von 10 Katzen im Vorversuch**

Von den Versuchstieren wurden aus jeder der 2 Gruppen 2 Katzen mit unterschiedlicher Keimflora gewählt, um den Einfluss von Vitamin C auf die Maulhöhlenflora zu überprüfen.

Aus der Kontrollgruppe wurden Katze 11 und Katze 12 gewählt.

Die differenzierten Bakterien des Grundstatus von Katze 11 sind in Tabelle 24 einzeln aufgeführt. Die im Vorversuch bestimmte Flora setzte sich bei Katze 11 wie in Abbildung 19 dargestellt aus 26,7 Prozent grampositiven, aeroben Stäbchen und jeweils 20 Prozent grampositiven, aeroben Kokken und grampositiven anaeroben Stäbchen zusammen. Jeweils 13,3 Prozent der Flora wurden von gramnegativen aeroben und grampositiven, anaeroben Stäbchen gebildet. 6,7 Prozent der kultivierbaren Spezies waren grampositive, anaerobe Kokken. Gramnegative, aerobe und anaerobe Kokken wurden nicht gefunden. Insgesamt waren 60 Prozent der isolierten Bakterienspezies aerobe und 40 Prozent anaerobe Keime.

Tabelle 24: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 11 (Kontrollgruppe); (sp. = Spezies)

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	Staphylococcus epidermidis Staphylococcus hominis Streptococcus suis	Peptostreptococcus sp.
	Stäbchen	Bacillus sp. Cellulomonas sp. Corynebacterium bovis Corynebacterium sp.	Eubacterium lentum Propionibacterium acnes Propionibacterium sp.
gramnegativ	Kokken		
	Stäbchen	Moraxella sp. Pasteurella sp.	Fusobacterium sp Prevotella melaninogenica/oralis

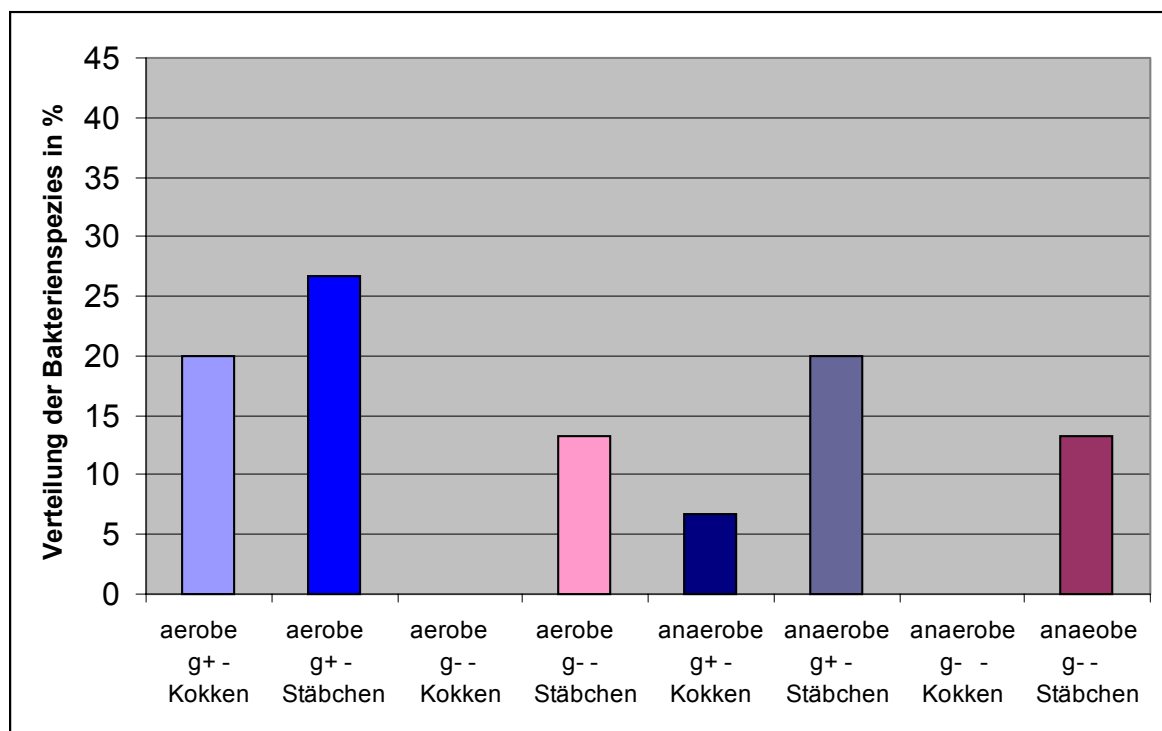


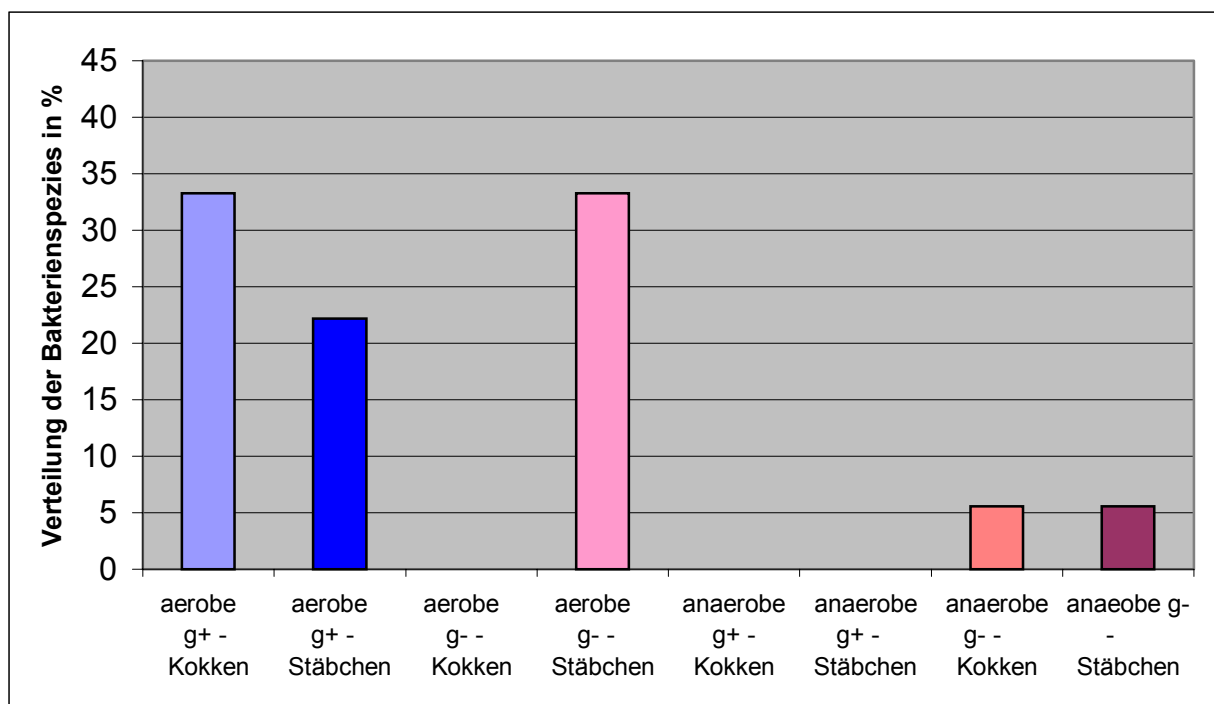
Abbildung 19: Grundstatus der Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 11 (Kontrollgruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen

An Tag 28 zeigte sich bei Katze 11 eine größere Vielfalt der Bakterienspezies im Vergleich zum Grundstatus. Während im Grundstatus 16 verschiedene Spezies (Tabelle 24) nachgewiesen wurden, waren es an Tag 28 18 verschiedene Bakterienspezies (Tabelle 25). In Tabelle 25 sind die differenzierten Bakterienspezies der Katze 11 von Tag 28 einzeln aufgeführt. An Tag 0 und Tag 28 ließen sich jedes Mal *Moraxella* sp. und *Pasteurella* sp. isolieren. Bei Staphylo-

kokken, Streptokokken und Corynebakterien wurden an Tag 0 und Tag 28 verschiedene Spezies differenziert.

**Tabelle 25: Bakterielle Maulflora der Katze 11 (Kontrollgruppe) an Tag 28; (sp = Spezies)**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	Aerococcus viridans Staphylococcus epidermidis Staphylococcus warneri Streptococcus suis I Streptococcus suis II Lactococcus lactis lactis	
	Stäbchen	Brevibacterium sp. Corynebacterium diptheriae mitis/belfanti Corynebacterium propinquum Cellulomonas sp	
gramnegativ	Kokken		Veilonella sp.
	Stäbchen	Moraxella sp. Pasteurella haemolytica Pasteurella sp. Sphingomonas paucimobilis Pseudomonas stutzeri Psychrobacter phenylpyr.	Wolinella sp



**Abbildung 20: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 11 (Kontrollgruppe) an Tag 28 des Vitamin C-Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, grampositiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen**

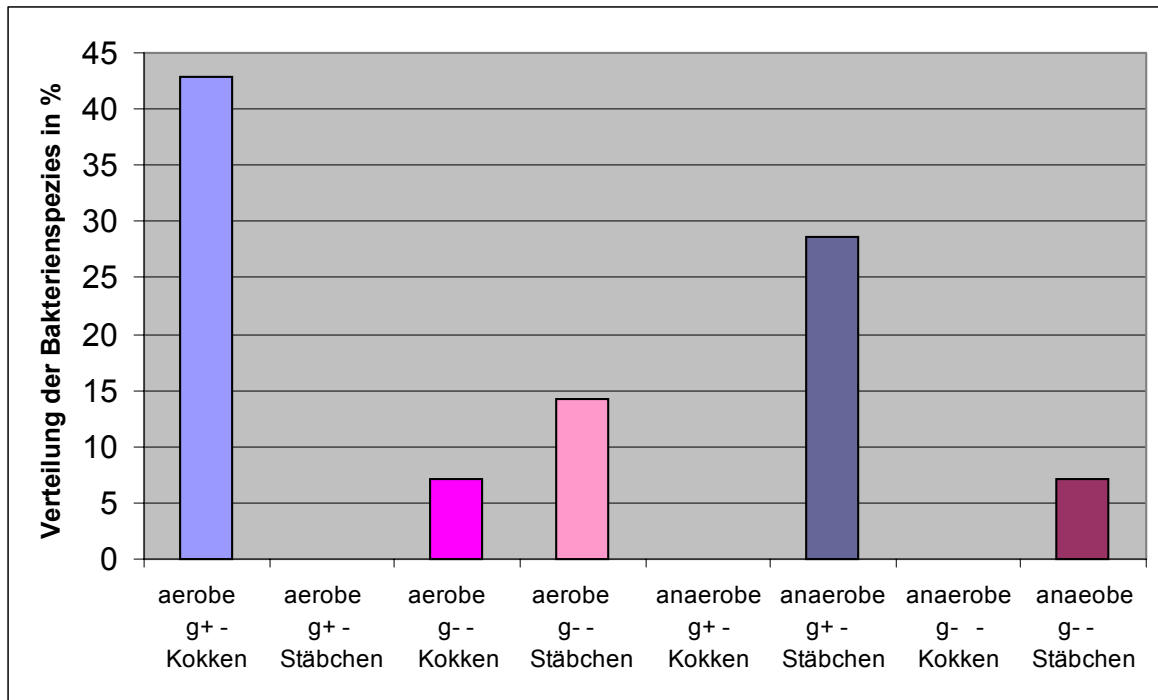
Wie in Abbildung 20 dargestellt, erhöhte sich der Anteil der gramnegativen, aeroben Stäbchen im Vergleich zum Grundstatus um 18,0 Prozent. Die grampositiven, aeroben Kokken stiegen um 10,5 Prozent. Es wurden im Gegensatz zum Grundstatus auch gramnegative, anaerobe Kokken an Tag 28 isoliert, die 5,6 Prozent der differenzierten Gesamtspezies ausmachten. Um 4,5 Prozent waren an Tag 28 die grampositiven Stäbchen verringert. Die gramnegativen, anaeroben Stäbchen verringerten sich um 7,7 Prozent. Wie an Tag 0 wurden an Tag 28 keine gramnegativen aeroben Kokken isoliert. Ebenso konnten an Tag 28 keine grampositiven, anaeroben Kokken und Stäbchen differenziert werden. Insgesamt vermehrten sich die aeroben Spezies an Tag 28 auf 88,8 Prozent, der Anteil der anaeroben Keime an der Gesamtflo-  
ra verringerte sich auf 11,2 Prozent.

Bei Katze 12 setzte sich die im Vorversuch bestimmte Maulflora, wie Abbildung 21 zu entnehmen ist, zum Großteil aus 42,9 Prozent grampositiven, aeroben Kokken, 28,6 Prozent grampositiven, anaeroben Stäbchen und 14,3 Prozent gramnegativen, aeroben Stäbchen zusammen. Jeweils 7,1 Prozent wurden als gramnegative, aerobe Kokken und gramnegative, anaerobe Stäbchen identifiziert. Grampositive und gramnegative anaerobe Kokken wurden nicht isoliert.

In Tabelle 26 sind die differenzierten Bakterienspezies des Grundstatus der Katze 12 einzeln aufgeführt.

**Tabelle 26: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 12 (Kontrollgruppe); (sp. = Spezies)**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	Kocuria rosea Micrococcus lylae Micrococcus sp. Staphylococcus chromogens Staphylococcus epidermidis Staphylococcus sp.	
	Stäbchen	Brevibacterium sp. Cellulomonas sp.	Clostridium perfringens Eubacterium lentum Propionibacterium acnes Propionibacterium propinquum
gramnegativ	Kokken	Neisseria cinera	
	Stäbchen	Moraxella sp. Pasteurella sp.	Prevortella melaninogenica/oralis



**Abbildung 21: Grundstatus der Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 12 (Kontrollgruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen**

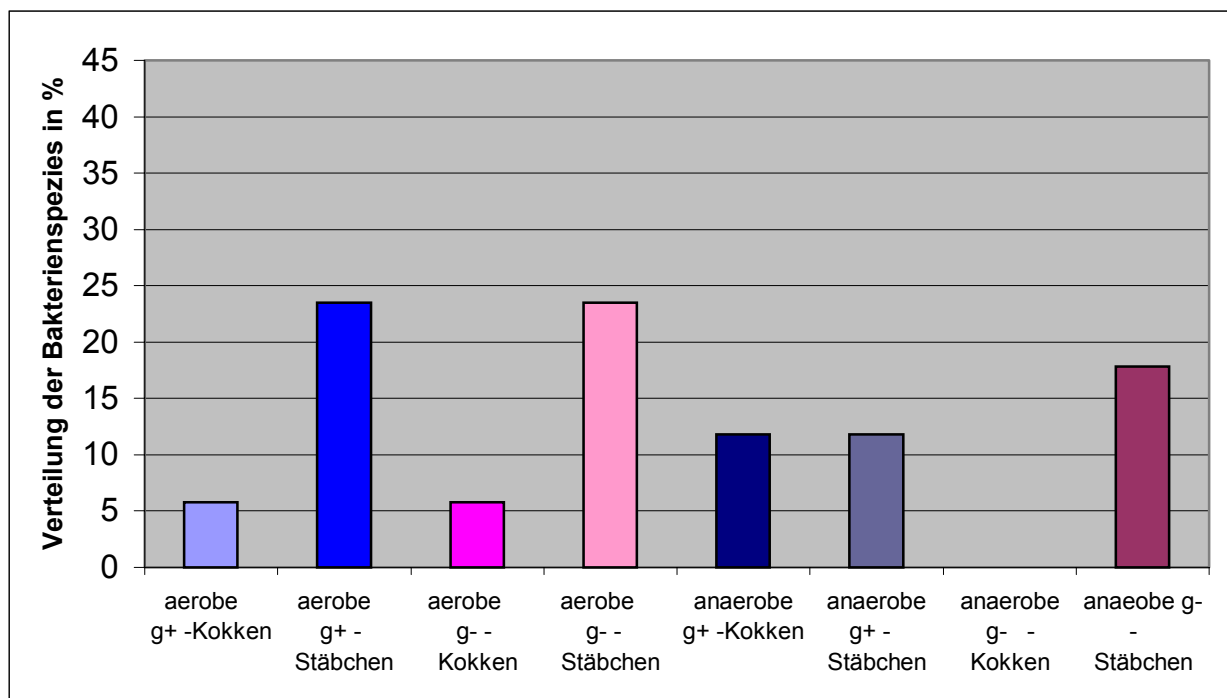
Die Anzahl der verschiedenen Bakterienspezies blieb vom Grundstatus auf Tag 28 unverändert. Zu beiden Zeitpunkten wurde bei Katze 12 *Brevibacterium* sp., *Cellulomonas* sp., *Eubacterium lentum*, *Propionibacterium propinquum*, *Neisseria cinera*, *Moraxella* sp., *Pasteurella* sp. und *Prevortella melaninogenica/oralis* aus der Maulhöhle isoliert.

**Tabelle 27: Bakterielle Maulflora der Katze 12 (Kontrollgruppe) an Tag 28; (sp = Spezies)**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Peptostreptococcus</i> sp. <i>Peptostreptococcus assacharyolyticus</i>
	Stäbchen	<i>Bifidobacterium</i> sp. <i>Brevibacterium</i> sp. <i>Cellulomonas</i> sp. <i>Corynebacterium</i> sp.	<i>Eubacterium lentum</i> <i>Propionibacterium propinquum</i>
gramnegativ	Kokken	<i>Neisseria cinera</i>	
	Stäbchen	<i>Haemophilus aphrophilus</i> <i>Moraxella</i> sp. <i>Pasteurella</i> sp. <i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Campylobacter gracilis</i> <i>Fusobacterium</i> sp. <i>Prevortella melaninogenica/oralis</i>



An Tag 28 verringerten sich bei Katze 12 der Anteil der grampositiven, aeroben Kokken im Vergleich zu Tag 0 um 37,1 Prozent, der Anteil der grampositiven, anaeroben Stäbchen um 16,8 Prozent und der Anteil der grampositiven, aeroben Stäbchen um 1,3 Prozent. Gramnegative anaerobe Kokken wurden auch an Tag 28 nicht gefunden. Allerdings wurden im Gegensatz zum Grundstatus an Tag 28 grampositive, aerobe Stäbchen, die 23,5 Prozent der Gesamtbakterienspezies ausmachten, und 11,8 Prozent grampositive, anaerobe Kokken differenziert. Der Anteil der gramnegativen, anaeroben Stäbchen erhöhten sich an Tag 28 um 10,6 Prozent und die gramnegativen, aeroben um 9,2 Prozent der Gesamtkeimflora. Insgesamt verringerten sich die aeroben Bakterienspezies auf 58,6 Prozent. Die anaeroben Bakterienspezies bildeten an Tag 28 41,4 Prozent der Gesamtflora und waren damit im Vergleich zum Grundstatus erhöht. Die prozentuale Verteilung der Bakterienspezies der Katze 12 an Tag 28 ist in Abbildung 22 dargestellt. In Tabelle 27 sind die differenzierten Bakterienspezies detailliert aufgeführt.



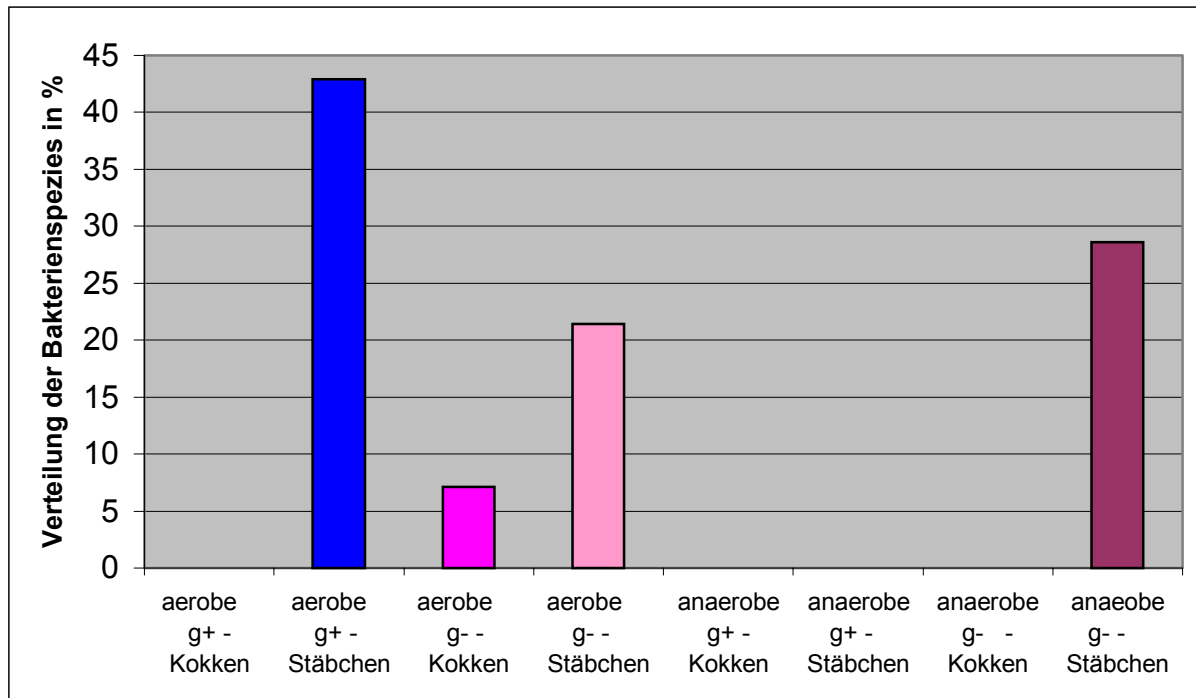
**Abbildung 22: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 12 (Kontrollgruppe) an Tag 28 des Vitamin C-Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, grampositiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen**

Aus der Vitamin C-Gruppe wurden Katze 1 und Katze 4 zur Beurteilung der bakteriellen Flora der Maulhöhle herangezogen.

In Tabelle 28 sind die differenzierten Bakterienspezies des Grundstatus der Katze 1 einzeln aufgeführt.

**Tabelle 28: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 1 (Vitamin C-Gruppe); (sp. = Spezies)**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken		
	Stäbchen	Arcanobacterium haemolytica. Brevibacterium sp Corynebacterium accolens Corynebacterium propinquum Corynebacterium sp. Corynebacterium ulcerans	
gramnegativ	Kokken	Lautropia sp.	
	Stäbchen	Moraxella sp. Pasteurella sp. Weeksella virosa	Campylobacter gracilis Porphyromonas assacharolytica Prevortella melaninogenica/oralis



**Abbildung 23: Grundstatus der Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 1 (Vitamin C-Gruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen**

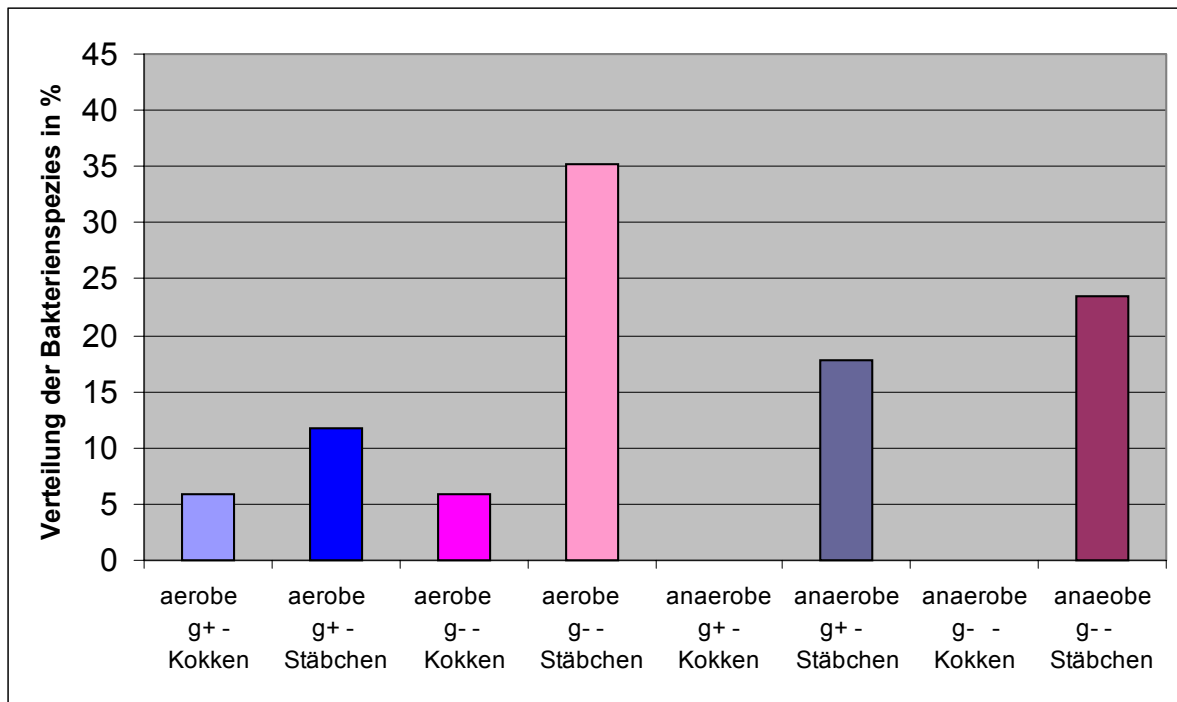
Bei Katze 1 setzte sich die im Vorversuch bestimmte Maulflora, wie Tabelle 28 zu entnehmen ist, zum Großteil aus 42,9 Prozent grampositiven, aeroben Stäbchen, 28,6 Prozent gramnegativen, anaeroben Stäbchen und 21,4 Prozent gramnegativen, aeroben Stäbchen zusammen. 7,1 Prozent der gesamten Bakterienspezies wurden als gramnegative, aerobe Kokken identifiziert. Grampositive und gramnegative anaerobe Kokken, gramnegative, anaerobe Stäbchen und grampositive, aerobe Kokken wurden nicht isoliert.

Die Vielfalt der Bakterienspezies vergrößerte sich vom Grundstatus mit 13 Bakterienspezies (Tabelle 28) zum Tag 28 mit 17 Spezies (Tabelle 29). Zu beiden Zeitpunkten wurden bei Katze 1 *Corynebacterium* sp., *Moraxella* sp., *Pasteurella* sp., *Campylobacter gracilis*, *Porphyromonas assacharolytica* und *Prevortella melaninogenica/oralis* isoliert.

**Tabelle 29: Bakterielle Maulflora der Katze 1 (Vitamin C-Gruppe) an Tag 28; (sp = Spezies)**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	<i>Arthrobacter</i> sp.	
	Stäbchen	<i>Cellulomonas</i> sp. <i>Corynebacterium</i> sp.	<i>Eubacterium lentum</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Propionibacterium acnes</i>
gramnegativ	Kokken	<i>Neisseria cinera</i>	
	Stäbchen	<i>Haemophilus aphrophilus</i> <i>Moraxella</i> sp. <i>Pasteurella multocida</i> <i>Pasteurella</i> sp. <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Campylobacter gracilis</i> <i>Fusobacterium</i> sp. <i>Porphyromonas assacharolytica</i> <i>Prevortella melaninogenica/oralis</i>

An Tag 28 verringerte sich bei Katze 1 der Anteil der grampositiven, aeroben Stäbchen im Vergleich zum Grundstatus um 31,2 Prozent, der Anteil der gramnegativen, anaeroben Stäbchen um 5,1 Prozent und der Anteil der gramnegativen, aeroben Kokken um 1,2 Prozent. Grampositive, aerobe Kokken konnten an Tag 28 bei Katze 1 isoliert werden. Ihr Anteil betrug 5,9 Prozent. Eine Zunahme von 13,9 Prozent wurde für gramnegative, aerobe Stäbchen und von 17,7 Prozent für grampositive, anaerobe Stäbchen festgestellt. Gramnegative und grampositive, anaerobe Kokken wurden wie im Grundstatus nicht aus der Maulhöhle der Katze 1 isoliert. Die prozentuale Verteilung der Bakterienspezies der Katze 1 an Tag 28 ist in Abbildung 24 dargestellt. In Tabelle 29 sind die differenzierten Bakterienspezies detailliert aufgeführt.



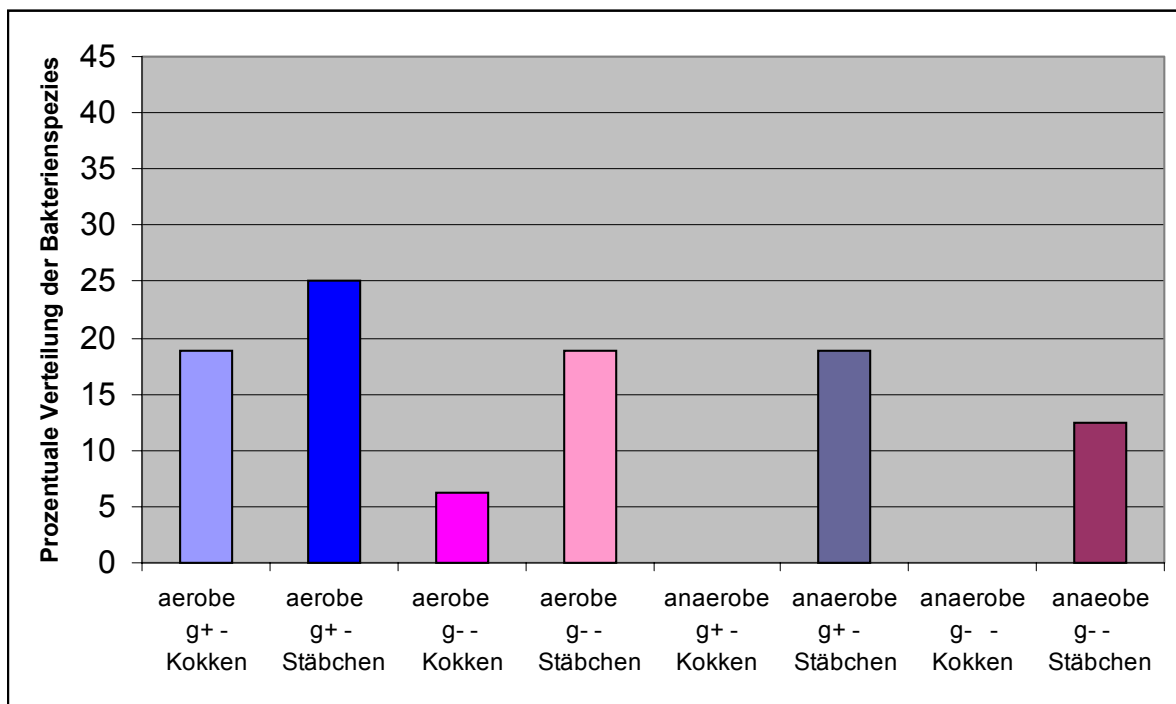
**Abbildung 24: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 1 (Vitamin C-Gruppe) an Tag 28 des Vitamin C-Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen**

Die differenzierten Keime des Grundstatus von Katze 4 sind in Tabelle 30 einzeln aufgeführt.

**Tabelle 30: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 4 (Vitamin C-Gruppe); (sp. = Spezies)**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	Staphylococcus sp. Streptococcus bovis I Streptococcus bovis II	
	Stäbchen	Bifidobacterium sp. Cellulomonas sp. Rothia dentocariosa Streptomyces sp.	Propionibacterium acnes Propionibacterium propinquum Lactobacillus acidophilus
gramnegativ	Kokken	Neisseria cinera	
	Stäbchen	Haemophilus aphrophilus Pasteurella sp. Sphingomonas paucimobilis	Prevotella buccae / oris Prevotella melaninogenica/oralis

Die im Vorversuch bestimmte Flora setzte sich bei Katze 4 wie in Abbildung 25 dargestellt aus jeweils 18,8 Prozent grampositiven, aeroben Kokken, gramnegativen, aeroben Stäbchen und grampositiven anaeroben Stäbchen zusammen. 25,0 Prozent der Flora wurden von grampositiven aeroben Stäbchen gebildet. Weitere 12,4 bzw. 6,2 Prozent waren gramnegative, anaerobe Stäbchen bzw. gramnegative, aerobe Stäbchen. Gramnegative, aerobe und anaerobe Kokken wurden nicht gefunden. Insgesamt waren 68,8 Prozent der isolierten Bakterienspezies aerobe und 31,2 Prozent anaerobe Keime.



**Abbildung 25: Grundstatus der Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 4 (Vitamin C-Gruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen**

An Tag 28 zeigte sich bei Katze 4 wie bei Katze 1 eine größere Vielfalt der Bakterienspezies im Vergleich zum Grundstatus. Während im Grundstatus 16 verschiedene Spezies (Tabelle 30) nachgewiesen wurden, waren es an Tag 28 21 verschiedene Bakterienspezies (Tabelle 31). In Tabelle 31 sind die differenzierten Bakterienspezies der Katze 4 von Tag 28 einzeln aufgeführt. An Tag 0 und Tag 28 ließen sich bei Katze 4 *Streptococcus bovis* I, *Bifidobacterium* sp., *Cellulomonas* sp., unterschiedliche *Staphylococcus* sp. und *Lactobacillus* sp., *Neisseria cinerea*, *Haemophilus aphrophilus*, *Pasteurella* sp., *Sphingomonas paucimobilis* und *Prevotella melaninogenica/oralis* isolieren.

Tabelle 31: Bakterielle Maulflora der Katze 4 (Vitamin C-Gruppe) an Tag 28; (sp. = Spezies)

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	Kocuria rosea Staphylococcus chromogens Staphylococcus epidermidis Streptococcus bovis I	
	Stäbchen	Arcanobacterium haemolytica Bifidobacterium sp. Cellulomonas sp. Corynebacterium propinquum	Eubacterium lentum Lactobacillus sp.
gramnegativ	Kokken	Neisseria cinera	
	Stäbchen	Burkholderia cepacia Haemophilus aphrophilus Moraxella sp. Pasteurella sp. Pseudomonas fluorescens Sphingomonas paucimobilis	Campylobacter gracilis Fusobacterium necrophorum Prevortella melaninogenica/oralis Wolinella sp.

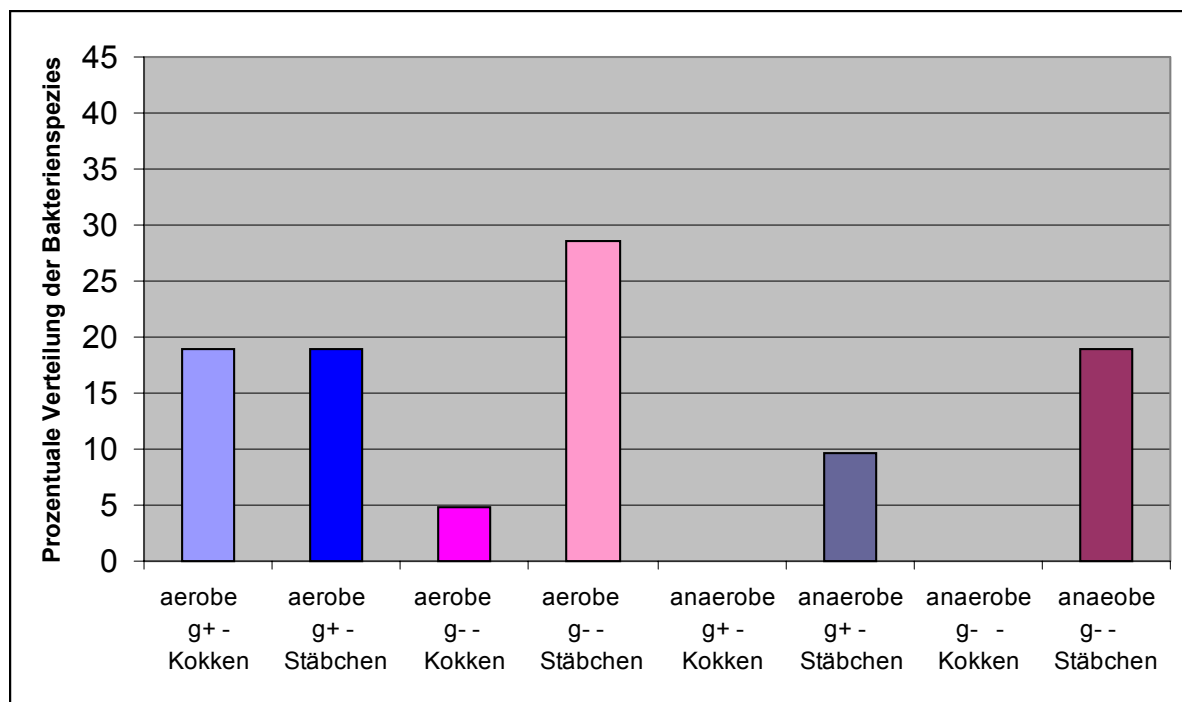


Abbildung 26: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 4 (Vitamin C-Gruppe) an Tag 28: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen

Der Anteil der gramnegativen, aeroben Bakterienspezies erhöhte sich im Vergleich zum Grundstatus um 9,8 Prozent. Die gramnegativen, anaeroben Stäbchen stiegen um 6,6 Prozent. Keine wesentliche Veränderung vom Grundstatus auf den Tag 28 ergab sich bei den grampo-

sitiven, aeroben Kokken. Die grampositiven, anaeroben Stäbchen verringerten sich um 9,2 Prozent, die grampositiven, aeroben Stäbchen um 6,0 Prozent und die gramnegativen, aeroben Kokken um 1,4 Prozent. Wie an Tag 0 wurden an Tag 28 keine gramnegativen und grampositiven, anaeroben Kokken isoliert.

Insgesamt ergab sich an Tag 28 bei der Verteilung der isolierten Bakterienspezies auf aerobe Spezies mit 71,4 Prozent der Gesamtflora und anaerobe Keime mit 28,6 Prozent kein wesentlicher Unterschied im Vergleich zum Grundstatus.

### 1.3.3.2 In vitro

Die Wirkung verschiedener Konzentrationen an Vitamin C wurde in vitro auf mit Bakterien-suspension bestrichenen Blutagarplatten getestet. Nachdem in das Loch ( $\varnothing$  1cm) in der Mitte des Nährbodens Vitamin C verbracht worden war, wurden die Agarplatten bei 37°C aerob für 24 Stunden und anaerob für 48 Stunden inkubiert. Die Hemmhöfe wurden immer vom Rand des Lochs aus in cm gemessen.

Auf der aerob bebrüteten Blutagarplatte mit der Vitamin C-Konzentration von 105,5 mg zeigte sich ein Hemmhof mit 1,3 cm Durchmesser. Während in einem Umkreis von 1,3 cm keine Kolonien vorgefunden wurden, wuchsen außerhalb dieser 1,3 cm die normalen Keime der Maulhöhle. Auf der anaerob inkubierten Agarplatte mit der gleichen Vitamin C-Konzentration zeigte sich ein doppelter Hemmhof. In einem Umkreis von 0,7 cm wuchsen keine Kolonien. Von diesem ersten Hemmhof aus gemessen wuchsen in einem Umkreis von weiteren 0,6 cm nur kleine, durchsichtige Kolonien. Erst ab dem Umkreis von 1,5 cm konnten große und kleine Bakterienkolonien und damit ein normales Wachstumsbild der Keime auf dem anaeroben Nährboden festgestellt werden.

Bei der Konzentration von 10,55 mg Vitamin C ergab sich nur noch auf der aerob bebrüteten Agarplatte ein Hemmhof mit 0,2 cm Durchmesser. Auf dem anaerob bebrüteten Nährboden mit dieser Vitamin C-Konzentration wurde bereits kein Hemmhof mehr festgestellt.

Auf den aerob und anaerob bebrüteten Nährböden mit 1,055 mg Vitamin C und auf der Kontrollplatten, die aerob und anaerob ohne Zugab von Vitamin C inkubiert wurden, zeigten sich keine Hemmhöfe.

Tabelle 32 gibt einen Überblick über die entstandenen Hemmhöfe.

**Tabelle 32: In vitro entstandene Hemmhöfe in cm auf mit Bakteriensuspension bestrichenem Blutagar durch 105, 5 mg, 10,55 mg, 1,055 mg und 0 mg (Kontrolle) Vitamin C nach aerober (24 h) und anaerober (48 h) Inkubation bei 37 °C**

<b>Vitamin C</b>	<b>Bebrütung</b>	<b>Hemmhof</b>
<b>105, 5 mg</b>	aerob	Ø 1,3 cm kein Wachstum
	anaerob	Ø 0,7 cm: kein Keimwachstum Ø 1,5 cm: nur kleine, durchsichtige Kolonien ab Ø 1,5 cm: große und kleine Kolonien
<b>10,55 mg</b>	aerob	Ø 0,2 cm kein Wachstum
	anaerob	kein Hemmhof
<b>1,055 mg</b>	aerob	kein Hemmhof
	anaerob	kein Hemmhof
<b>0 mg (Kontrolle)</b>	aerob	kein Hemmhof
	anaerob	kein Hemmhof



## 2 Versuch mit Epigallocatechin Gallat (EGCG) in Kombination mit Lactoferrin (LF)

### 2.1 Versuchstiere

Die 18 in der Fütterungsstudie eingesetzten Katzen waren vor, während und nach dem Versuch mit Epigallocatechin Gallat (EGCG) in Kombination mit Lactoferrin (LF) gesund. Die durchgeführten klinischen Untersuchungen erbrachten keine Anzeichen auf eine Erkrankung der Tiere. Die Resultate der Blutuntersuchungen sind in Kapitel 2.3.1 angegeben.

In Tabelle 33 ist die Gewichtsentwicklung der 18 Katzen während des Versuchs mit Epigallocatechin Gallat in Kombination mit Lactoferrin (EGCG/LF) dargestellt. In beiden Gruppen zeigte sich eine leichte Gewichtszunahme.

**Tabelle 33: Durchschnittliches Gewicht in kg der Katzen der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe an Tag 0 und Tag 28**

	Kontrollgruppe		EGCG/LF –Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>Gewicht in kg</b>	4,3 ± 0,9	4,5 ± 1,0	4,5 ± 1,0	4,6 ± 1,2

### 2.2 Maulhöhlenparameter

#### 2.2.1 Halitosis

Die an Tag 0 und Tag 28 durchgeführte Atemgeruchsmessung mittels Halimeter, bei der die Schwefelkomponenten in der Atemluft in ppm gemessen wurden, zeigte bei der Kontrollgruppe und auch bei der EGCG/LF-Gruppe im Mittel eine nicht signifikante Verminderung von Tag 0 auf Tag 28. Diese Verringerung betrug bei der Kontrollgruppe 4,33 ppm und bei der EGCG/LF-Gruppe 19,03 ppm. Die Ausgangswerte der Schwefelkomponenten beider Gruppen an Tag 0 unterscheiden sich nicht signifikant um 16,00 ppm, wobei die Kontrollgruppe den niedrigeren Wert aufwies. Auch der Vergleich der Differenzen beider Gruppen

zwischen Tag 0 und Tag 28 ergab keine Signifikanz. In Tabelle 34 sind die Durchschnittswerte der 3 Messungen der jeweiligen Gruppen angegeben.

**Tabelle 34: Vergleich der mittels Halimeter durchgeführten Halitosismessungen (Schwefelkomponenten in ppm) der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe an Tag 0 und Tag 28, sowie Vergleich der Messungen an Tag 0 und Tag 28 innerhalb der Gruppen**

Halitosis	Kontrollgruppe		EGCG/LF –Gruppe	
	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28
<b>Mittel der 3 Messungen</b>	74,00 ± 16,52	69,67 ± 14,71	90,00 ± 36,47	70,70 ± 13,34

Die organoleptisch durchgeführte Halitosismessung, die auf einer Skala von 0 (keine Halitosis) bis 3 (starke Halitosis) bewertet wurde, ergab in der Kontrollgruppe von Tag 0 auf Tag 28 einen nicht signifikanten Anstieg von 10 Prozent. In der Vitamin C-Gruppe zeigte sich eine nicht signifikante Zunahme der Halitosis von nur 7 Prozent. Die einzelnen Werte sind Tabelle 14 zu entnehmen.

**Tabelle 35: Vergleich der organoleptischen Halitosismessung der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppe an Tag 0 und Tag 28 , bewertet auf einer Skala von 0 (keine Halitosis) bis 3 (starke Halitosis)**

Halitosis (organoleptisch)	Kontrollgruppe		EGCG/LF –Gruppe	
	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28
<b>Messung</b>	1,56 ± 0,39	1,72 ± 0,44	1,56 ± 0,53	1,67 ± 0,50

### 2.2.2 Gingivitisindex

Der Gingivitisindex (GI) wurde auf einer Skala von 0 bis 3 an Tag 0 und Tag 28 bewertet. Wobei 0 für keine Gingivitis und 3 für schwere Gingivitis eingesetzt wurde. Die durchschnitt-

lichen Werte des Gingivitisindex der Kontroll- und EGCG/LF-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 sind in Tabelle 36 aufgeführt.

**Tabelle 36: Vergleich des durchschnittlichen Gingivitisindex (GI) der einzelnen Zähne und des Gesamtgingivitisindex der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppe an Tag 0 und Tag 28 bewertet auf einer Skala von 0 (keine Gingivitis) bis 3 (schwere Gingivitis)**

Gingivitisindex (GI)	Kontrollgruppe		EGCG/LF –Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>GI 204</b>	0,43 ± 0,29	0,50 ± 0,31	0,44 ± 0,38	0,19 ± 0,18
<b>GI 207</b>	0,76 ± 0,35	0,50 ± 0,22	0,65 ± 0,36	0,43 ± 0,49
<b>GI 208</b>	0,67 ± 0,25	0,46 ± 0,23	0,74 ± 0,32	0,52 ± 0,40
<b>GI 304</b>	0,63 ± 0,43	0,74 ± 0,75	0,54 ± 0,49	0,43 ± 0,44
<b>GI 308</b>	0,17 ± 0,19	0,09 ± 0,17	0,17 ± 0,12	0,02 ± 0,06 <sup>#</sup>
<b>GI 309</b>	0,35 ± 0,33	0,17 ± 0,32 <sup>#</sup>	0,33 ± 0,32	0,07 ± 0,09
<b>GI 104</b>	0,65 ± 0,35	0,59 ± 0,39	0,83 ± 0,78	0,59 ± 0,61
<b>GI 107</b>	0,50 ± 0,30	0,39 ± 0,29	0,85 ± 0,43	0,30 ± 0,29 <sup>#</sup>
<b>GI 108</b>	0,72 ± 0,35	0,56 ± 0,28	0,91 ± 0,24	0,44 ± 0,35 <sup>#</sup>
<b>GI 404</b>	0,57 ± 0,55	0,41 ± 0,49	0,30 ± 0,25	0,19 ± 0,24
<b>GI 408</b>	0,07 ± 0,09	0,04 ± 0,07	0,09 ± 0,09	0,00 ± 0,00 <sup>#</sup>
<b>GI 409</b>	0,37 ± 0,32	0,11 ± 0,17	0,31 ± 0,31	0,15 ± 0,28
<b>GI (gesamt)</b>	0,50 ± 0,18	0,37 ± 0,18	0,52 ± 0,19	0,28 ± 0,16 <sup>#</sup>

<sup>#</sup>signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) innerhalb einer Gruppe zwischen den Tagen 0 und 28

Der Gesamtgingivitisindex der EGCG/LF-Gruppe an Tag 0 war um 4 Prozent höher als der Gesamtgingivitisindex der Kontrollgruppe an Tag 0. Eine Verringerung des Gesamtgingivitisindex zeigte sich von Tag 0 auf Tag 28 bei beiden Gruppen. Der Gesamtgingivitisindex der Kontrollgruppe verringerte sich nicht signifikant um 26 Prozent, der Index der EGCG/LF-Gruppe signifikant um 46 Prozent. Der Vergleich der Differenzen der Kontroll- und der EGCG/LF-Gruppe zwischen Tag 0 und Tag 28 ergab einen p-Wert von 0,057 und lag damit nur knapp über dem als signifikant zu bezeichnenden Bereich.

Bei den einzeln bewerteten Zähnen zeigte der Großteil der Zähne innerhalb der Kontroll- und EGCG/LF-Gruppe keine signifikanten Unterschiede von Tag 0 auf Tag 28. Innerhalb der Kontrollgruppe verringerte sich der Gingivitisindex im Mittel nur an einem Zahn signifikant und zwar am Molar 1 im linken Unterkiefer (309) um 51 Prozent. Bei der EGCG/LF-Gruppe zeigten 4 Zähne im Durchschnitt eine signifikante Verringerung des Gingivitisindex. Der durchschnittliche Index des Prämolaren 4 im linken Unterkiefer (308) verringerte sich um 88 Prozent, der des Prämolaren 3 im rechten Oberkiefer (107) um 65 Prozent und der Index des Prämolaren 4 im rechten Oberkiefer (108) um 52 Prozent. Der Prämolare 4 im rechten Unterkiefer (408) wies an Tag 28 sogar keine Gingivitis mehr auf.

### 2.2.3 Sondierungstiefe

Die Sondierungstiefe (PD), gemessen in mm, wurde bei der Kontroll- und der EGCG/LF-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 bestimmt. In Tabelle 37 sind die Werte der durchschnittlichen Sondierungstiefe des EGCG/LF-Versuchs angegeben.

Die Gesamtsondierungstiefe der EGCG/LF-Gruppe an Tag 0 war nur um 0,01 mm tiefer als die der Kontrollgruppe. Von Tag 0 auf Tag 28 verringerte sich die Gesamtsondierungstiefe innerhalb der Kontrollgruppe nicht signifikant um 1 Prozent und innerhalb der EGCG/LF-Gruppe ebenfalls nicht signifikant um 21 Prozent. Beim Vergleich der Differenzen der beiden Gruppen von Tag 0 auf Tag 28 ergab sich allerdings ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen, wobei die EGCG/LF-Gruppe die größere Differenz aufwies.

Bei den einzeln bewerteten Zähnen zeigten sich nur in der EGCG/LF-Gruppe bei 2 Zähnen signifikante Unterschiede von Tag 0 auf Tag 28. Und zwar verringerte sich die durchschnittliche Sondierungstiefe des Prämolaren 3 im rechten Oberkiefer (107) signifikant um 34 Prozent und die des Prämolaren 4 ebenfalls im rechten Oberkiefer (108) signifikant um 27 Prozent.

Beim Vergleich der Differenzen der beiden Gruppen von Tag 0 auf Tag 28 ergaben sich für 3 Zähne Signifikanzen. Die Werte des Caninus im rechten Oberkiefer (104), die des Prämolaren 3 im rechten Oberkiefer (107) und die des Prämolaren 4 ebenfalls im rechten Oberkiefer (108) zeigten für die EGCG/LF-Gruppe signifikant größere Differenzen als für die Kontrollgruppe.

**Tabelle 37: Vergleich des durchschnittlichen Sondierungstiefe (PD) in mm der einzelnen Zähne und der durchschnittlichen Gesamtsondierungstiefe der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppe an Tag 0 und Tag 28**

Sondierungstiefe (PD)	Kontrollgruppe		EGCG/LF –Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>PD 204</b>	1,07 ± 0,65	1,07 ± 0,58	0,72 ± 0,22	0,69 ± 0,21
<b>PD 207</b>	0,89 ± 0,43	0,93 ± 0,45	0,87 ± 0,20	0,78 ± 0,36
<b>PD 208</b>	0,98 ± 0,29	0,87 ± 0,30	1,24 ± 0,29	1,11 ± 0,51
<b>PD 304</b>	1,11 ± 0,80	1,67 ± 1,62	1,06 ± 0,91	0,89 ± 1,10
<b>PD 308</b>	0,33 ± 0,26	0,17 ± 0,22	0,15 ± 0,18	0,11 ± 0,12
<b>PD 309</b>	0,59 ± 0,36	0,41 ± 0,52	0,50 ± 0,45	0,30 ± 0,23
<b>PD 104</b>	1,15 ± 0,59	1,48 ± 0,90	1,98 ± 2,01	1,56 ± 1,01*
<b>PD 107</b>	0,96 ± 0,41	1,24 ± 0,61	1,04 ± 0,20	0,69 ± 0,26 <sup>#</sup> *
<b>PD 108</b>	1,20 ± 0,48	1,19 ± 0,44	1,39 ± 0,33	1,02 ± 0,23 <sup>#</sup> *
<b>PD 404</b>	1,30 ± 1,45	1,00 ± 1,18	0,56 ± 0,26	0,52 ± 0,34
<b>PD 408</b>	0,15 ± 0,21	0,06 ± 0,08	0,09 ± 0,12	0,07 ± 0,09
<b>PD 409</b>	0,37 ± 0,20	0,22 ± 0,20	0,37 ± 0,26	0,24 ± 0,26
<b>PD gesamt</b>	0,83 ± 0,30	0,82 ± 0,30	0,84 ± 0,25	0,66 ± 0,21*

<sup>#</sup>signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) innerhalb einer Gruppe zwischen den Tagen 0 und 28

\*signifikanter Unterschied ( $p < 0,05$ ) zwischen der Kontroll- und EGCG/LF-Gruppe (Prüfgröße Delta Tag 0-28)

## 2.2.4 Plaqueindex

An Tag 28 wurde der Plaqueindex (PI) angegeben als Produkt der Bedeckung der Zahnoberfläche mit Plaque und der Dicke des Plaquebelags. Die Bedeckung wurde auf einer Skala von 0 bis 4 bewertet, wobei 0 für keine Plaque und 4 für mehr als  $\frac{3}{4}$  der Zahnoberfläche mit Plaque bedeckt stand. Die Dicke wurde auf einer Skala von 0 bis 3 beurteilt. 0 stand für keinen, 3 für dicken Belag. An Tag 0 wurden die Zähne der Kontroll- und der EGCG/LF -Gruppe gereinigt, so dass sämtliche Plaque entfernt wurde und der Plaqueindex gleich 0 gesetzt wurde. Bei der statistischen Auswertung wurden deshalb auch nur die beiden Gruppen an Tag 28 verglichen.

Zwischen Kontroll- und EGCG/LF -Gruppe ergab sich für den Gesamtplaqueindex kein signifikanter Unterschied. Der Gesamtplaqueindex der EGCG/LF –Gruppe war um 10 Prozent niedriger als der Index der Kontrollgruppe.

Bei den einzeln bewerteten Zähnen zeigten sich an Tag 28 bei 2 Zähnen fast signifikante Unterschiede zwischen Kontroll- und EGCG/LF -Gruppe. Am Prämolaren 4 des linken Oberkiefers (208) ergab sich bei der EGCG/LF ein um 21 Prozent niedrigerer Plaueindex als bei der Kontrollgruppe. Ein um 25 Prozent niedrigerer durchschnittlicher Plaueindex wurde bei der EGCG/LF-Gruppe auch am Prämolaren 3 im rechten Oberkiefer vorgefunden. Die p-Werte betragen 0,052 und 0,056.

In Tabelle 38 sind die einzelnen Werte der durchschnittlichen Plaueindices des EGCG/LF-Versuchs aufgeführt.

**Tabelle 38: Vergleich des durchschnittlichen Plaueindex (PI) der einzelnen Zähne und des Gesamtplaueindex der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe an Tag 28 angegeben als Produkt der Bedeckung der Zahnoberfläche (0 = keine Plaue bis 3 = über  $\frac{3}{4}$  der Zahnoberfläche mit Plaue bedeckt) und Dicke des Belags (0 = keine Plaue bis 3 = dicker Belag)**

Plaueindex (PI)	Kontrollgruppe		EGCG/LF –Gruppe	
	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28
<b>PI 204</b>	0 ± 0	13,44 ± 4,80	0 ± 0	11,22 ± 5,70
<b>PI 207</b>	0 ± 0	16,56 ± 5,10	0 ± 0	14,00 ± 4,66
<b>PI 208</b>	0 ± 0	20,56 ± 1,81	0 ± 0	16,22 ± 4,94
<b>PI 304</b>	0 ± 0	6,44 ± 2,07	0 ± 0	5,78 ± 3,07
<b>PI 308</b>	0 ± 0	7,89 ± 3,98	0 ± 0	6,89 ± 2,98
<b>PI 309</b>	0 ± 0	13,67 ± 4,66	0 ± 0	10,89 ± 2,98
<b>PI 104</b>	0 ± 0	11,78 ± 4,74	0 ± 0	12,67 ± 3,12
<b>PI 107</b>	0 ± 0	15,89 ± 4,34	0 ± 0	11,89 ± 3,89
<b>PI 108</b>	0 ± 0	20,89 ± 3,69	0 ± 0	17,67 ± 3,54
<b>PI 404</b>	0 ± 0	8,44 ± 4,50	0 ± 0	9,11 ± 5,04
<b>PI 408</b>	0 ± 0	8,44 ± 3,36	0 ± 0	7,89 ± 3,18
<b>PI 409</b>	0 ± 0	15,44 ± 2,40	0 ± 0	14,11 ± 5,46
<b>PI gesamt</b>	0 ± 0	13,29 ± 4,85	0 ± 0	11,38 ± 3,67

### 2.2.5 Zahnsteinindex

Der Zahnsteinindex (CI) wurde an Tag 28 auf einer Skala von 0 bis 4 beurteilt. Kein Zahnstein wurde mit 0 bewertet, eine über  $\frac{3}{4}$  mit Zahnstein bedeckte Zahnoberfläche mit 4. An Tag 0 wurde bei beiden Gruppen sämtlicher Zahnstein von den Zahnoberflächen entfernt und die Zähne gereinigt, so dass der Zahnsteinindex zu Versuchsbeginn gleich 0 gesetzt werden konnte.

An Tag 28 zeigte EGCG/LF-Gruppe einen um 4 Prozent niedrigeren Gesamtzahnsteinindex als die Kontrollgruppe. Es ergaben sich jedoch bei keinem Zahn zu keinem Zeitpunkt Signifikanzen.

**Tabelle 39: Vergleich des durchschnittlichen Zahnsteinindex (PI) der einzelnen Zähne und des Gesamtplaqueindex der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe an Tag 28 bewertet auf einer Skala von 0 (kein Zahnstein) bis 3 (über  $\frac{3}{4}$  der Zahnoberfläche mit Zahnstein bedeckt)**

Zahnsteinindex (CI)	Kontrollgruppe		EGCG/LF –Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>CI 204</b>	0 ± 0	2,33 ± 0,87	0 ± 0	2,44 ± 1,51
<b>CI 207</b>	0 ± 0	3,11 ± 1,76	0 ± 0	1,89 ± 1,05
<b>CI 208</b>	0 ± 0	4,78 ± 2,17	0 ± 0	6,44 ± 2,19
<b>CI 304</b>	0 ± 0	1,11 ± 0,33	0 ± 0	0,78 ± 0,44
<b>CI 308</b>	0 ± 0	0,56 ± 0,53	0 ± 0	0,11 ± 0,33
<b>CI 309</b>	0 ± 0	1,22 ± 1,20	0 ± 0	0,89 ± 0,78
<b>CI 104</b>	0 ± 0	2,67 ± 1,22	0 ± 0	2,67 ± 1,80
<b>CI 107</b>	0 ± 0	2,78 ± 3,07	0 ± 0	2,56 ± 1,13
<b>CI 108</b>	0 ± 0	5,33 ± 1,94	0 ± 0	5,78 ± 1,79
<b>CI 404</b>	0 ± 0	1,00 ± 0,00	0 ± 0	0,56 ± 0,53
<b>CI 408</b>	0 ± 0	0,67 ± 0,71	0 ± 0	0,44 ± 1,01
<b>CI 409</b>	0 ± 0	1,56 ± 1,01	0 ± 0	1,33 ± 0,87
<b>CI gesamt</b>	0 ± 0	1,15 ± 0,32	0 ± 0	1,10 ± 0,27

### **2.2.6 Furkationsindex**

Die Bestimmung des Furkationsindex (FI) ergab bei der Kontroll- und der EGCG/LF-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs stets 0. Es konnten keine Veränderungen dieses Index während des gesamten Versuchs festgesellt werden.

### **2.2.7 Mobilitätsindex**

Die Bestimmung des Mobilitätsindex (MI) ergab bei der Kontroll- und der EGCG/LF-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs stets 0. Es konnten keine Veränderungen dieses Index während des gesamten Versuchs festgesellt werden.

## **2.3 Laborbestimmungen**

### **2.3.1 Blutbild**

An Tag 0 und Tag 28 des EGCG/LF –Versuchs wurde das weiße Blutbild mit Leukozyten (WBC), neutrophilen Granulozyten (Neu), Lymphozyten (Lym), Monozyten (Mono), eosinophilen Granulozyten (Eos) und basophilen Granulozyten (Baso) – jeweils angegeben in  $10^9/l$  – bei allen Katzen bestimmt.

Die Gruppenwerte des weißen Blutbildes der Kontroll- und der EGCG/LF-Gruppe zu Versuchsbeginn und Versuchsende sind in Tabelle 40 dargestellt.

Es lagen alle durchschnittlichen Werte der neutrophilen Granulozyten und der basophilen Granulozyten der Kontroll- und der EGCG/LF -Gruppe in den von Kraft und Dürr (1999) angegebenen Referenzbereichen. Innerhalb der Kontrollgruppe befanden sich außerdem die durchschnittlichen Werte der Leukozyten und Lymphozyten innerhalb des Referenzbereichs.

Bei der EGCG/LF -Gruppe wurde eine geringgradige Erhöhung der Lymphozyten zu Versuchsbeginn und –ende festgestellt. Die Leukozyten dieser Gruppe waren an Tag 0 noch im und an Tag 28 mit 4 Prozent nur knapp über dem Referenzbereich.

Der durchschnittliche Wert der Monozyten der Kontroll- und der EGCG/LF-Gruppe lag an Tag 0 und Tag 28 nur geringgradig über der oberen Grenze des Referenzbereiches. Die Überschreitung betrug in der Kontrollgruppe 20 bis 22 Prozent und in der EGCG/LF-Gruppe 2 bis



6 Prozent. Bei fast allen Katzen zeigte sich eine Eosinophilie. Der durchschnittliche Wert der eosinophilen Granulozyten lag je nach Gruppe und Zeitpunkt zwischen 20 und 70 Prozent über dem oberen Wert des Referenzbereichs.

**Tabelle 40: Weißes Blutbild mit Leukozyten (WBC), neutrophilen Granulozyten (Neu), Lymphozyten (Lym), Monozyten (Mono), eosinophilen Granulozyten (Eos) und basophilen Granulozyten (Baso) der Kontrollgruppe und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe während des EGCG/LF-Versuchs an Tag 0 und Tag 28, jeweils angegeben in  $10^9/l$**

weißes Blutbild	Kontrollgruppe		EGCG/LF-Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>WBC (<math>10^9/l</math>)</b>	10,16 ± 3,48	9,70 ± 3,32	11,00 ± 3,71	11,43 ± 5,26
<b>Neu (<math>10^9/l</math>)</b>	5,64 ± 3,10	4,87 ± 2,84	5,07 ± 2,16	6,05 ± 4,00
<b>Lym (<math>10^9/l</math>)</b>	3,08 ± 1,52	3,41 ± 1,45	4,48 ± 2,18	4,26 ± 1,52
<b>Mono (<math>10^9/l</math>)</b>	0,61 ± 0,29	0,60 ± 0,25	0,53 ± 0,32	0,51 ± 0,25
<b>Eos (<math>10^9/l</math>)</b>	0,79 ± 0,53	0,78 ± 0,36	0,86 ± 0,71	0,60 ± 0,36
<b>Baso (<math>10^9/l</math>)</b>	0,05 ± 0,04	0,03 ± 0,02	0,07 ± 0,05	0,02 ± 0,02

Die Resultate des roten Blutbildes (Tabelle 41) entsprachen zum Großteil bei beiden Gruppen an Tag 0 und Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs den in Kraft und Dürr (1999) angegebenen Referenzbereichen. Geringgradig erhöht – zwischen 1 und 16 Prozent - waren die Erythrozyten an Tag 0 bei der Kontrollgruppe und zu Versuchsbeginn und –ende bei der EGCG/LF-Gruppe. Ebenfalls eine geringgradige Überschreitung des Referenzbereichs zeigten sich bei den Hämoglobinwerten und dem Hämatokrit der EGCG/LF-Gruppe an Tag 0.

**Tabelle 41: Rotes Blutbild mit Erythrozyten (RBC in  $10^{12}/l$ ), Hämoglobin (Hgb in mmol/l), Hämatokrit (Hct in l/l), Mittleres Erythrozytenvolumen (MCV in fl), Mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerthrozyten (MCH in fmol), Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC in mmol/l) der Kontroll- und Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs**

rotes Blutbild	Kontrollgruppe		EGCG/LF-Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>RBC (<math>10^{12}/l</math>)</b>	10,07 ± 1,22	9,82 ± 0,83	11,94 ± 2,90	10,54 ± 1,07
<b>Hgb (mmol/l)</b>	8,47 ± 0,91	8,61 ± 0,82	9,85 ± 2,23	9,11 ± 0,90
<b>Hct (l/l)</b>	0,42 ± 0,04	0,42 ± 0,03	0,48 ± 0,11	0,43 ± 0,04
<b>MCV (fl)</b>	42,23 ± 2,50	42,78 ± 1,34	40,13 ± 2,60	40,83 ± 2,03
<b>MCH (fmol)</b>	0,84 ± 0,03	0,88 ± 0,02	0,83 ± 0,04	0,87 ± 0,05
<b>MCHC (mmol/l)</b>	20,01 ± 0,87	20,57 ± 0,94	20,64 ± 0,59	21,21 ± 1,05
<b>PLT (<math>10^9/l</math>)</b>	348,56 ± 226,09	305,22 ± 148,31	417,13 ± 180,12	286,11 ± 139,96

### 2.3.2 Nieren- und Fruktosaminwerte

Zu Versuchsbeginn und zum Versuchsende wurden die Nieren- und Fruktosamin werte bestimmt. Als Referenzbereiche wurden die von Kraft und Dürr (1999) angegebenen Werte herangezogen.

Zur Überwachung der Nierenfunktion wurden Harnstoff (HAST) in mmol/l und Kreatinin (CREA) in  $\mu\text{mol}/l$  bestimmt. Die Harnstoffwerte lagen bei der Kontrollgruppe zu Tag 0 und Tag 28 im Referenzbereich. Bei der EGCG/LF-Gruppe befand sich der durchschnittliche Harnstoffwert innerhalb und der Wert an Tag 28 geringgradig über dem Referenzbereich. Die Kreatininwerte waren zu Versuchsbeginn und –ende bei Kontroll- und EGCG/LF –Gruppe stets im Referenzbereich.

Auch Fruktosamin, bestimmt in  $\mu\text{mol}/l$ , lag bei Kontroll- und EGCG/LF -Gruppe während des EGCG/LF -Versuchs stets innerhalb des Referenzbereichs.

Die einzelnen Nieren- und Fuktosaminwerte zu Versuchsbeginn und Versuchsende sind in Tabelle 42 aufgeführt.

**Tabelle 42: Vergleich der Nierenwerte mit Harnstoff (HAST in mmol/l) und Kreatinin (CREA in  $\mu\text{mol/l}$ ) sowie Fructosamin (FRUC in  $\mu\text{mol/l}$ ) der Kontroll- und Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) - Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs**

	Kontrollgruppe		EGCG/LF-Gruppe	
	Versuchsbeginn	Versuchsende	Versuchsbeginn	Versuchsende
	Tag 0	Tag 28	Tag 0	Tag 28
<b>HAST (mmol/l)</b>	8,99 $\pm$ 1,40	9,44 $\pm$ 2,01	9,39 $\pm$ 0,96	11,46 $\pm$ 1,86
<b>CREA (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	128,20 $\pm$ 11,84	118,78 $\pm$ 14,33	143,67 $\pm$ 30,04	123,56 $\pm$ 15,27
<b>FRUC (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	223,60 $\pm$ 24,37	259,44 $\pm$ 38,07	247,67 $\pm$ 19,30	249,00 $\pm$ 29,80

### 2.3.3 Antioxidativer Status

Der antioxidative Status wurde an Tag 0 und Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs bei Kontroll- und EGCG/LF-Gruppe bestimmt. Die antioxidative Kapazität wurde in Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) angegeben. Sie erhöhte sich bei beiden Gruppen von Tag 0 auf Tag 28. Bei der Kontrollgruppe betrug der Anstieg 18 Prozent, bei der EGCG/LF-Gruppe 25 Prozent.

Bei den Vitamin E- und Vitamin C-Werten ergaben sich zu keinem Zeitpunkt - weder zwischen den Gruppen noch von Tag 0 auf Tag 28 - signifikante Unterschiede. Die Vitamin E-Werte blieben innerhalb der Gruppen sogar ziemlich konstant.

Die gemessenen Werte der Kreatinkinase (CK) lagen bei Kontroll- und EGCG/LF-Gruppe nur an Tag 28 über dem von KRAFT und DÜRR (1999) angegebenen Referenzbereich.

Die Werte der Aspartat-Amino-Transferase (AST) lagen stets innerhalb der von KRAFT und DÜRR (1999) angegebenen Referenzbereiche.

Es ergaben sich allerdings zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede.

Die einzelnen Werte des antioxidativen Status sind in Tabelle 43 dargestellt.

**Tabelle 43: Antioxidativer Status der Kontroll- und Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) - Gruppe an Tag 0 und Tag 28: Vergleich der durchschnittlichen antioxidativen Kapazität in Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), Vitamin E -, Vitamin C-, Kreatinkinase- (CK) in IU/l und Aspartat-Amino-Transferase-(AST) Konzentration in IU/l**

	Kontrollgruppe		EGCG/LF –Gruppe	
	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28	Versuchsbeginn Tag 0	Versuchsende Tag 28
<b>antioxidative Kapazität in TEAC</b>	53,89 ± 9,19	63,35 ± 16,11	60,51 ± 13,90	75,64 ± 33,45
<b>Vitamin E</b>	18,3 ± 3,7	16,1 ± 3,2	18,2 ± 3,6	16,2 ± 4,6
<b>Vitamin C</b>	- <sup>o1</sup>	3,5 ± 0,7	- <sup>o1</sup>	3,9 ± 1,2
<b>CK in IU/l</b>	106,11 ± 35,65	325,78 ± 498,37	112,11 ± 37,98	207,22 ± 139,46
<b>AST in IU/l</b>	19,00 ± 3,24	22,33 ± 4,90	21,33 ± 5,68	26,67 ± 11,79

<sup>o1</sup> Messung aus technischen Gründen nicht möglich

### 2.3.4 Epigallocatechin Gallat (EGCG)

Es wurde bei keiner Gruppe an Tag 0 und Tag 28 EGCG aus dem Plasma nachgewiesen.

### 2.3.5 Antibakterielle Aktivität

#### 2.3.5.1 In vivo

Im Vorversuch wurden 10 Katzen aus den Versuchstieren gewählt, um eine Übersicht über die vorhandene Grundbakterienflora der Maulhöhle der Versuchstiere zu bekommen. Dieser Grundstatus ist in Kapitel 1.3.3.1 (Tabelle 23 und Abbildung 18) dargestellt und erläutert. Es handelte sich um eine rein qualitative Analyse. Auch die im folgenden aufgeführten Diagramme zur Veranschaulichung der Prozentualen Verteilung der Bakterienspezies innerhalb

der isolierten Gesamtspezies geben keine quantitativen sondern nur qualitative Ergebnisse wieder.

An den bereits im Vitamin C-Versuch ausgewählten Katzen wurden der Einfluss von EGCG in Kombination mit Lactoferrin auf die Maulhöhlenflora dieser Tiere überprüft. Die Wirkstoff- und Kontrollgruppe wurden im crossover-Verfahren gewechselt.

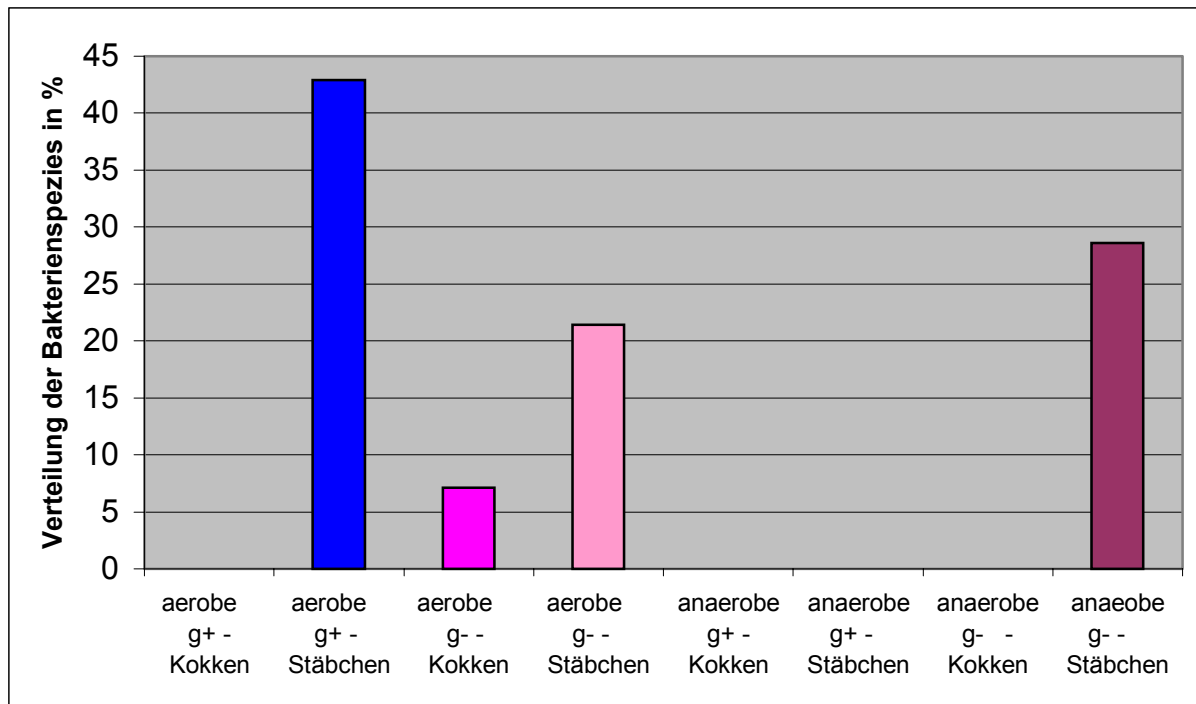
Aus der Kontrollgruppe wurde die Bakterienflora von Katze 1 und Katze 4 näher betrachtet.

In Tabelle 44 sind die differenzierten Bakterienspezies des Grundstatus der Katze 1 einzeln aufgeführt.

**Tabelle 44: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 1 (Kontroll-Gruppe); (sp. = Spezies)**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken		
	Stäbchen	Arcanobacterium haemolytica Brevibacterium sp Corynebacterium accolens Corynebacterium propinquum Corynebacterium sp. Corynebacterium ulcerans	
gramnegativ	Kokken	Lautropia sp.	
	Stäbchen	Moraxella sp. Pasteurella sp. Weeksella virosa	Campylobacter gracilis Porphyromonas assacharolytica Prevortella melaninogenica/oralis

Bei Katze 1 setzte sich die im Vorversuch bestimmte Maulflora, wie Abbildung 27 zu entnehmen ist, zum Großteil aus 42,9 Prozent grampositiven, aeroben Stäbchen, 28,6 Prozent gramnegativen, anaeroben Stäbchen und 21,4 Prozent gramnegativen, aeroben Stäbchen zusammen. 7,1 Prozent der gesamten Bakterienspezies wurden als gramnegative, aerobe Kokken identifiziert. Grampositive und gramnegative anaerobe Kokken, gramnegative, anaerobe Stäbchen und grampositive, aerobe Kokken wurden nicht isoliert. Insgesamt waren 71,4 Prozent der isolierten Bakterienspezies aerobe und 28,6 Prozent anaerobe Keime



**Abbildung 27: Grundstatus der Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 1 (Vitamin C-Gruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen**

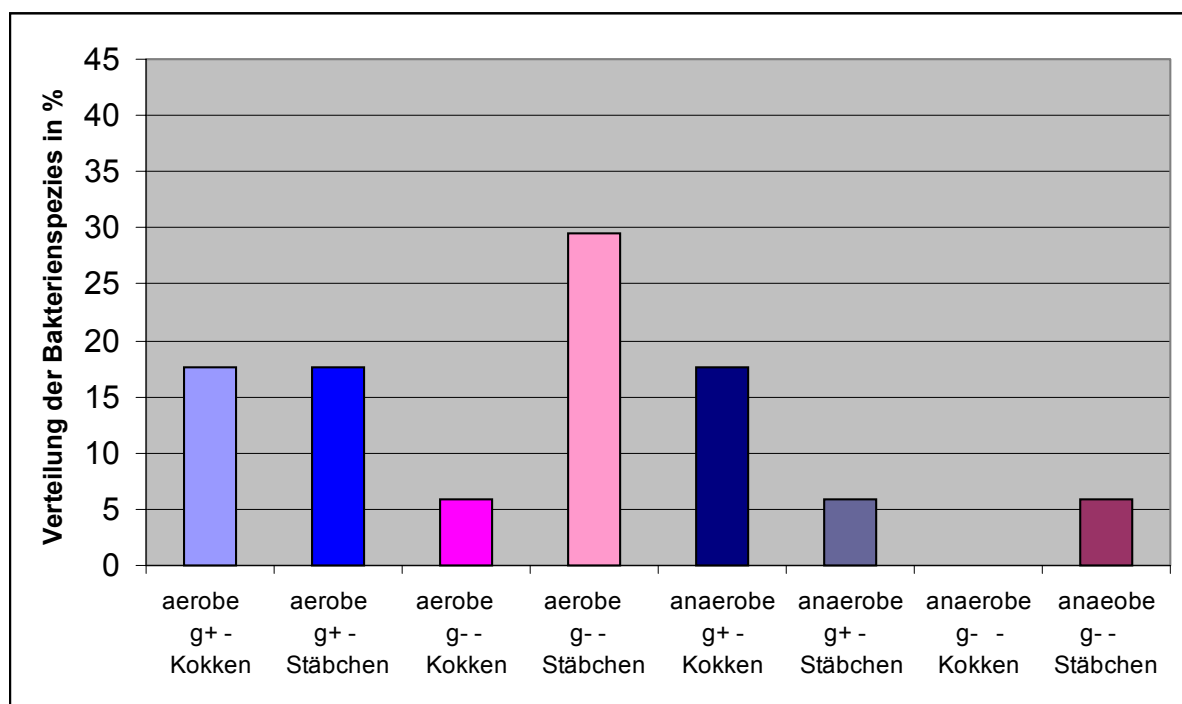
Die Vielfalt der Bakterienspezies vergrößerte sich vom Grundstatus mit 13 Bakterienspezies (Tabelle 44) zum Tag 28 mit 17 Spezies (Tabelle 45). Zu beiden Zeitpunkten wurden bei Katze 1 verschiedene *Corynebacterium* spp. und *Pasteurella* spp., *Moraxella* sp. und *Prevotella melaninogenica/oralis* isoliert. In Tabelle 45 sind die differenzierten Bakterienspezies detailliert aufgeführt.

An Tag 28 verringerte sich bei Katze 1 der Anteil der grampositiven, aeroben Stäbchen an der Gesamtfloora im Vergleich zum Grundstatus um 25,3 Prozent, der Anteil der gramnegativen, anaeroben Stäbchen um 22,7 Prozent und der Anteil der gramnegativen, aeroben Kokken um 1,2 Prozent. Grampositive, aerobe Kokken und grampositive, anaerobe Kokken konnten an Tag 28 bei Katze 1 isoliert werden. Ihr Anteil betrug jeweils 7,6 Prozent. Auch grampositive, anaerobe Stäbchen wurden mit 5,9 Prozent isoliert. Gramnegative, anaerobe Kokken wurden wie Grundstatus nicht gefunden. Eine Zunahme von 8,1 Prozent wurde für gramnegative, aerobe Stäbchen und von 5,9 Prozent für grampositive, anaerobe Stäbchen festgestellt. Insgesamt ergab sich an Tag 28 bei der Verteilung der isolierten Bakterienspezies auf aerobe Spezies mit 70,6 Prozent der Gesamtfloora und anaerobe Keime mit 29,4 Prozent kein wesentli-

cher Unterschied im Vergleich zum Grundstatus. Die prozentuale Verteilung der Bakterien-spezies der Katze 1 an Tag 28 ist in Abbildung 24 dargestellt.

**Tabelle 45: Bakterielle Maulflora der Katze 1 (Kontroll-Gruppe) an Tag 28; (sp. = Spezies)**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	Micrococcus luteus Micrococcus sp. Streptococcus suis I	Peptostreptococcus sp. Peptostreptococcus assacharolyticus
	Stäbchen	Cellulomonas sp. Corynebacterium propinquum Corynebacterium sp.	Propionibacterium propionicum
gramnegativ	Kokken	Neisseria cinera	
	Stäbchen	Haemophilus aphrophilus Moraxella sp. Pasteurella multocida Pasteurella sp. Psychrobacter sp.	Prevortella melaninogenica/oralis



**Abbildung 28: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 1 (Kontrollgruppe) an Tag 28 des EGCG/LF - Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen**

Die differenzierten Keime des Grundstatus von Katze 4 sind in Tabelle 46 einzeln aufgeführt.

Tabelle 46: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 4 (Kontroll-Gruppe); (sp. = Spezies)

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	Staphylococcus epidermidis Streptococcus suis	Peptostreptococcus sp.
	Stäbchen	Brevibacterium sp. Cellulomonas sp. Corynebacterium diphteriae mitis Corynebacterium sp.	Actinomyces viscosus Propionibacterium acnes
gramnegativ	Kokken		
	Stäbchen	Moraxella sp. Pasteurella haemolytica Pasteurella sp. Psychrobacter sp. Sphingomonas paucimobilis	Fusobacterium necrophorum Prevortella melaninogenica/oralis

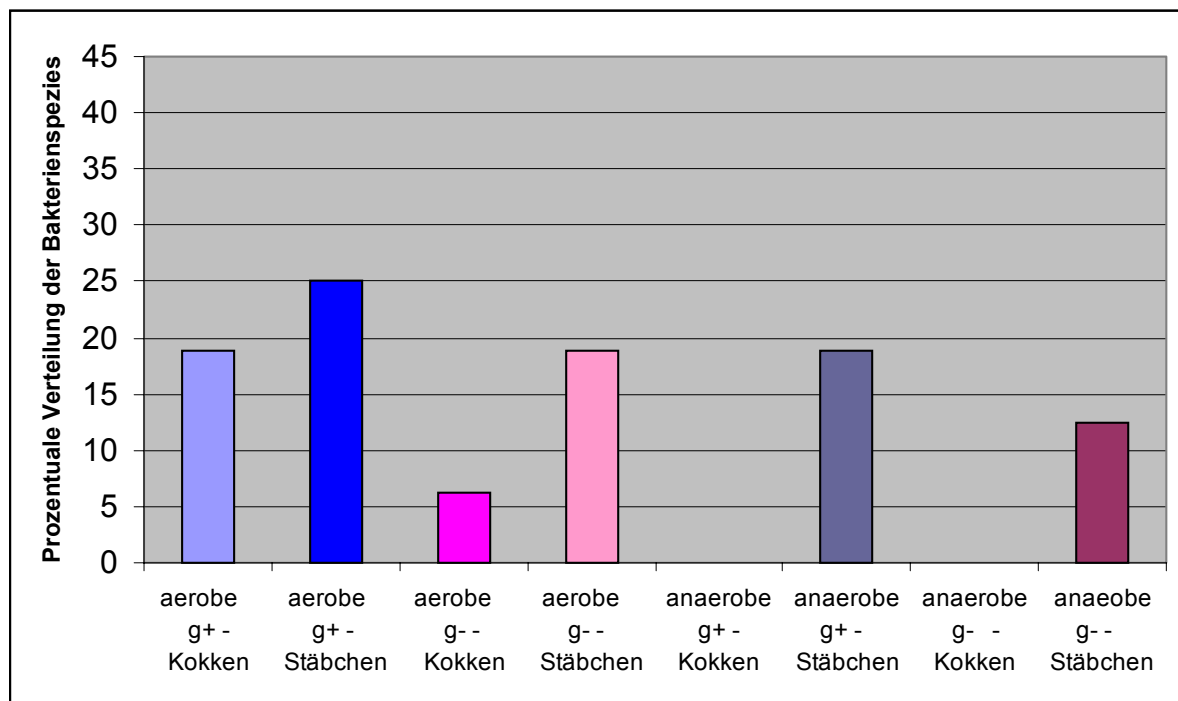


Abbildung 29: Grundstatus der Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 4 (Kontrollgruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen

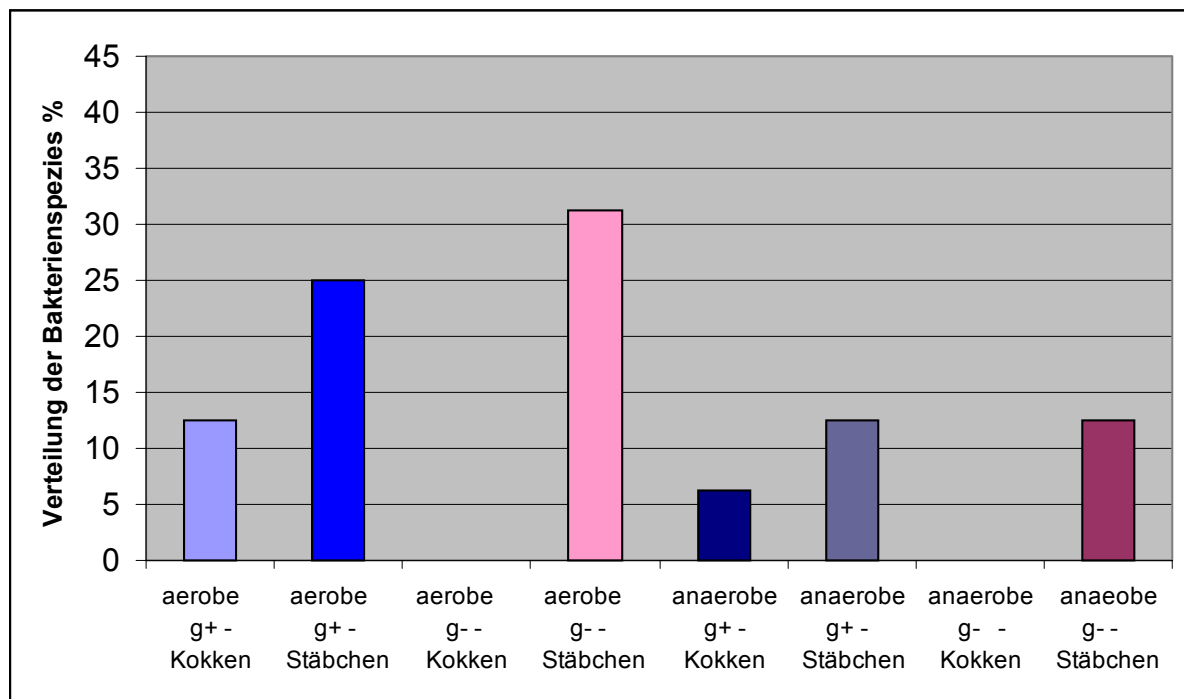
Die im Vorversuch bestimmte Flora setzte sich bei Katze 4 wie in Abbildung 29 dargestellt aus jeweils 18,8 Prozent grampositiven, aeroben Kokken, gramnegativen, aeroben Stäbchen und grampositiven anaeroben Stäbchen zusammen. 25,0 Prozent der Flora wurden von gram-positiven aeroben Stäbchen gebildet. Weitere 12,4 bzw. 6,2 Prozent waren gramnegative, anaerobe Stäbchen bzw. gramnegative, aerobe Stäbchen. Gramnegative, aerobe und anaerobe Kokken wurden nicht gefunden. Insgesamt waren 68,8 Prozent der isolierten Bakterienspezies aerobe und 31,2 Prozent anaerobe Keime.



An Tag 28 zeigte sich bei Katze 4 die gleiche Anzahl verschiedener Bakterienspezies wie zum Grundstatus. An Tag 0 und Tag 28 ließen sich bei Katze 4 *Streptococcus bovis* I, *Bifidobacterium* sp., *Cellulomonas* sp., unterschiedliche *Staphylococcus* sp. und *Lactobacillus* sp., *Neisseria cinera*, *Haemophilus aphrophilus*, *Pasteurella* sp., *Sphingomonas paucimobilis* und *Prevortella melaninogenica/oralis* isolieren. In Tabelle 47 sind die differenzierten Bakterienspezies der Katze 4 von Tag 28 einzeln aufgeführt.

**Tabelle 47: Bakterielle Maulflora der Katze 4 (Kontroll-Gruppe) an Tag 28; (sp. = Spezies)**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	<i>Staphylococcus</i> sp. <i>Streptococcus bovis</i> I <i>Streptococcus bovis</i> II	
	Stäbchen	<i>Bifidobacterium</i> sp. <i>Cellulomonas</i> sp. <i>Rothia dentocariosa</i> <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Propionibacterium acnes</i> <i>Propionibacterium propinquum</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i>
gramnegativ	Kokken	<i>Neisseria cinera</i>	
	Stäbchen	<i>Haemophilus aphrophilus</i> <i>Pasteurella</i> sp. <i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Prevortella buccae / oris</i> <i>Prevortella melaninogenica/oralis</i>



**Abbildung 30: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 4 (Kontrollgruppe) an Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, grampositiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen**

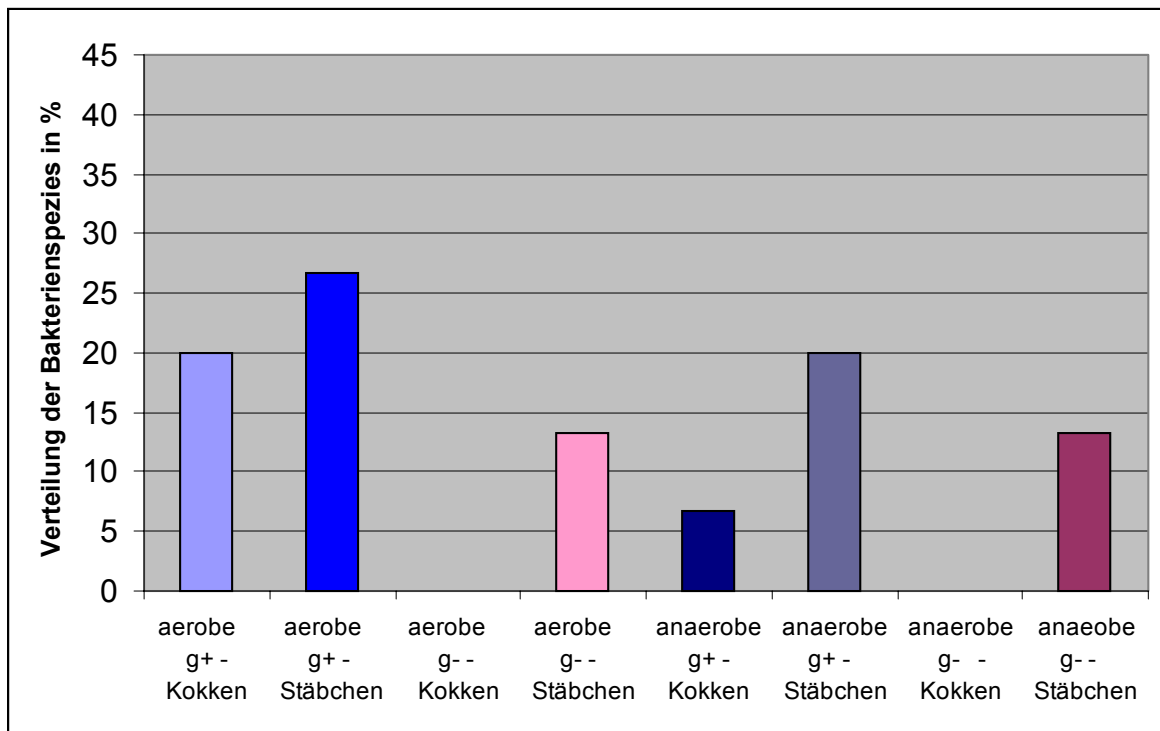
Der Anteil der gramnegativen, aeroben Stäbchen an der Gesamtflora der Katze 4 erhöhte sich im Vergleich zum Grundstatus um 12,4 Prozent. Die grampositiven, anaeroben Kokken stiegen auf 6,3 Prozent der Gesamtbakterienspezies. Keine wesentliche Veränderung vom Grundstatus auf den Tag 28 ergab sich bei den gramnegativen, anaeroben Stäbchen, den grampositiven, aeroben Kokken und den grampositiven, aeroben Stäbchen. Die grampositiven, aeroben Kokken verringerten sich um 6,3 Prozent der Gesamtflora. Gramnegative, aerobe und anaerobe Kokken wurden an Tag 28 nicht isoliert. Insgesamt ergab sich an Tag 28 bei der Verteilung der isolierten Bakterienspezies auf aerobe Spezies mit 68,7 Prozent der Gesamtflora und anaerobe Keime mit 31,3 Prozent kein wesentlicher Unterschied im Vergleich zum Grundstatus der Katze 4.

Die im Vorversuch bestimmte Flora setzte sich bei Katze 11 wie in Abbildung 31 dargestellt aus 26,7 Prozent grampositiven, aeroben Stäbchen und jeweils 20 Prozent grampositiven, aeroben Kokken und grampositiven anaeroben Stäbchen zusammen. Jeweils 13,3 Prozent der Flora wurden von gramnegativen aeroben und grampositiven, anaeroben Stäbchen gebildet. 6,7 Prozent der kultivierbaren Spezies waren grampositive, anaerobe Kokken. Gramnegative, aerobe und anaerobe Kokken wurden nicht gefunden. Insgesamt waren 60 Prozent der isolierten Bakterienspezies aerobe und 40 Prozent anaerobe Keime.

Die differenzierten Bakterien des Grundstatus von Katze 11 sind in Tabelle 48 einzeln aufgeführt.

**Tabelle 48: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 11 (EGCG/LF-Gruppe); (sp. = Spezies)**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	Staphylococcus epidermidis Staphylococcus hominis Streptococcus suis	Peptostreptococcus spp
	Stäbchen	Bacillus sp. Cellulomonas sp Corynebacterium bovis Corynebacterium sp.	Eubacterium lentum Propionibacterium acnes Propionibacterium sp
gramnegativ	Kokken		
	Stäbchen	Moraxella sp. Pasteurella sp.	Fusobacterium sp Prevotella melani/oralis

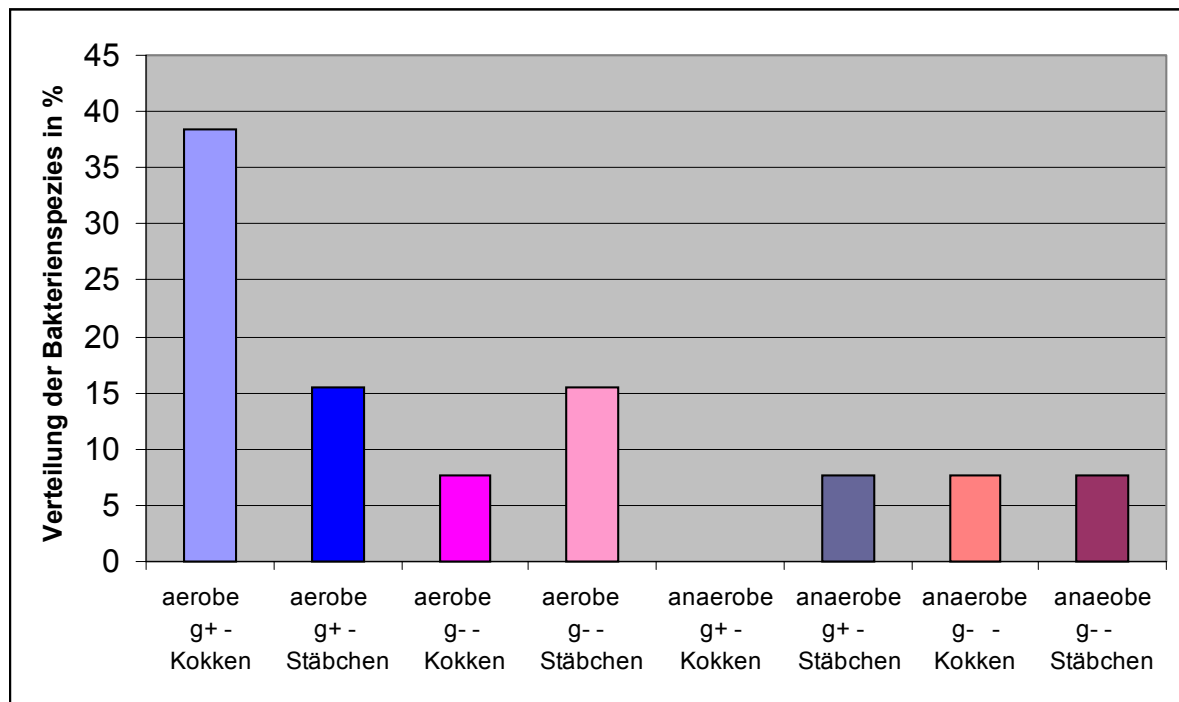


**Abbildung 31: Grundstatus der Bakterienflora der Katze 11 (EGCG/LF-Gruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen**

An Tag 28 zeigte sich bei Katze 11 eine geringere Vielfalt der Bakterienspezies im Vergleich zum Grundstatus. Während im Grundstatus 16 verschiedene Spezies (Tabelle 48) nachgewiesen wurden, waren es an Tag 28 nur noch 13 verschiedene Bakterienspezies (Tabelle 49). An Tag 0 und Tag 28 ließen sich jedes Mal *Pasteurella* sp., *Eubacterium lentum*, *Cellulomonas* sp. und *Prevotella melaninogenica/oralis* isolieren. Staphylokokken und Streptokokken wurden an Tag 0 und Tag 28 isoliert, es wurden allerdings verschiedene Spezies differenziert.

**Tabelle 49: Bakterielle Maulflora der Katze 11 (EGCG/LF-Gruppe) an Tag 28; (sp. = Spezies)**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	Staphylococcus sp. Staphylococcus warneri Streptococcus bovis I Streptococcus suis I Streptococcus mitis	
	Stäbchen	Brevibacterium sp. Cellulomonas sp.	Eubacterium lentum
gramnegativ	Kokken	Neisseria sp.	Veillonella sp.
	Stäbchen	Psychrobacter sp. Pasteurella sp.	Prevotella melaninogenica / oralis



**Abbildung 32: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 11 (EGCG/LF-Gruppe) an Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, grampositiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen**

Die grampositiven, aeroben Kokken verringerten sich um 16,6 Prozent der gesamten differenzierten Bakterienspezies, die grampositiven, anaeroben Stäbchen um 19 Prozent, die gramnegativen, anaeroben Stäbchen um 5,6 und die grampositiven, aeroben Stäbchen um 4,6 Prozent. Grampositive, anaerobe Kokken wurden im Gegensatz zum Grundstatus nicht isoliert. Um jeweils 7,7 Prozent der Gesamtflora waren an Tag 28 die negativen, aeroben und anaeroben Kokken erhöht.

In Tabelle 50 sind die differenzierten Bakterienspezies des Grundstatus der Katze 12 einzeln aufgeführt.

Tabelle 50: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 12 (Kontrollgruppe); (sp. = Spezies)

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	Kocuria rosea Micrococcus lylae Micrococcus sp. Staphylococcus chromogens Staphylococcus epidermidis Staphylococcus sp.	
	Stäbchen	Brevibacterium sp. Cellulomonas sp.	Clostridium perfringens Eubacterium lentum Propionibacterium acnes Propionibacterium propinquum
gramnegativ	Kokken	Neisseria cinera	
	Stäbchen	Moraxella sp. Pasteurella sp.	Prevortella melani / oralis

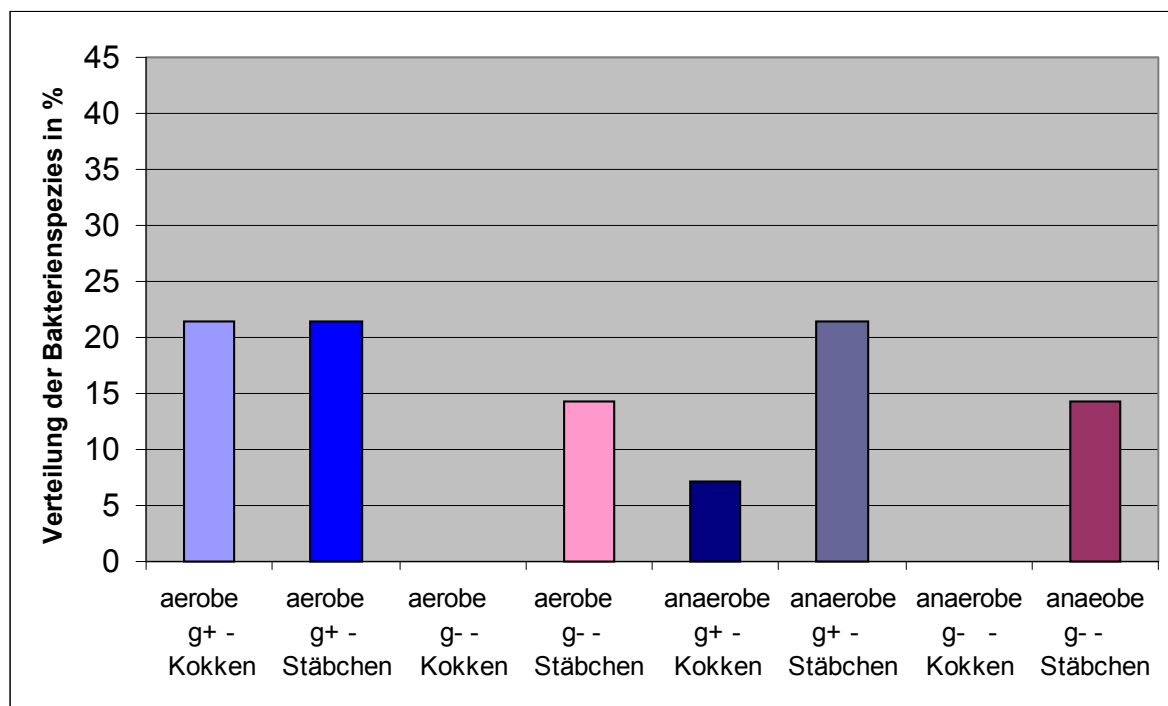


Abbildung 33: Grundstatus der Bakterienflora der Katze 12 (EGCG/LF-Gruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen

Bei Katze 12 setzte sich die im Vorversuch bestimmte Maulflora, wie Abbildung 33 zu entnehmen ist, zum Großteil aus 42,9 Prozent grampositiven, aeroben Kokken, 28,6 Prozent grampositiven, anaeroben Stäbchen und 14,3 Prozent gramnegativen, aeroben Stäbchen zusammen. Jeweils 7,1 Prozent wurden als gramnegative, aerobe Kokken und gramnegative, an-

aerobe Stäbchen identifiziert. Grampositive und gramnegative anaerobe Kokken wurden nicht isoliert.

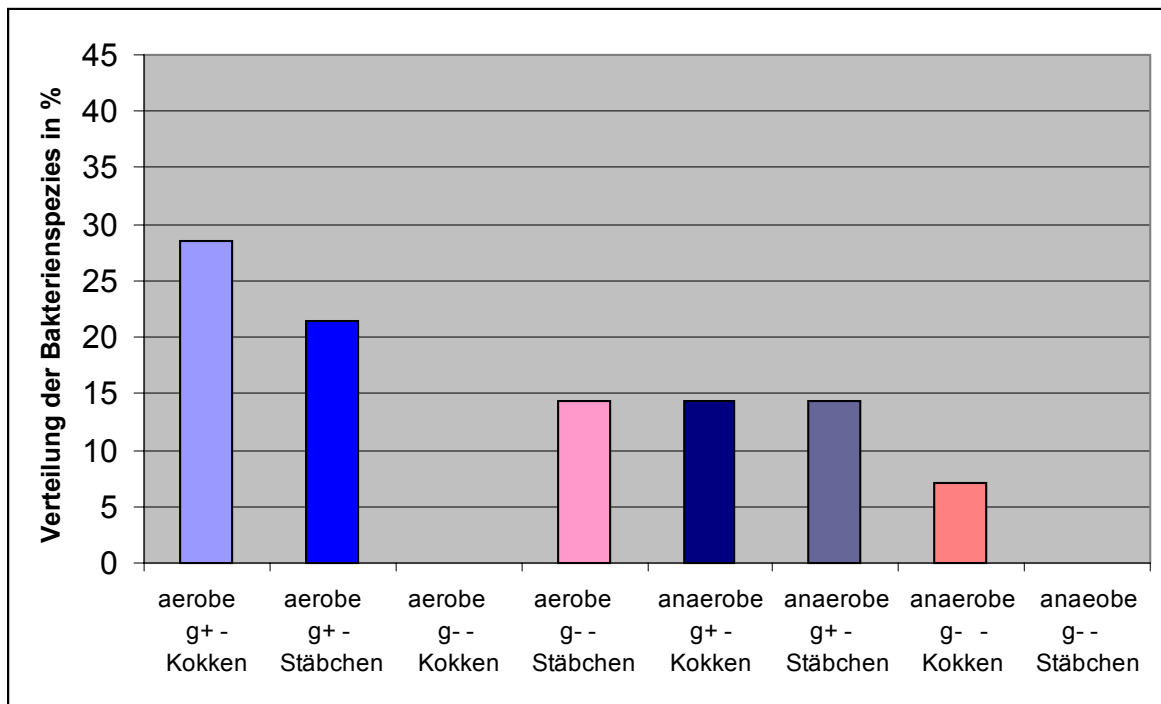
Die Anzahl der verschiedenen Bakterienspezies verringerte sich bei Katze 12 vom Grundstatus mit 16 Bakterienspezies auf Tag 28 mit 14 Spezies. Zu beiden Zeitpunkten wurde bei Katze 12 *Staphylococcus chromogens*, *Cellulomonas* sp., *Eubacterium lentum*, *Moraxella* sp. und *Pasteurella* sp isoliert. Micrococccen wurden zu beiden Zeitpunkten gefunden, allerdings wurden verschiedene Spezies differenziert. In Tabelle 51 sind die differenzierten Bakterienspezies detailliert aufgeführt.

An Tag 28 verringerte sich bei Katze 12 der Anteil der grampositiven, aeroben Kokken an der Gesamtflora und der Anteil der grampositiven, anaeroben Stäbchen im Vergleich zum Grundstatus jeweils um 14,3 Prozent. Gramnegative, aerobe Kokken und gramnegative anaerobe Stäbchen konnten an Tag 28 nicht mehr nachgewiesen werden. Die grampositiven, aeroben Stäbchen und die grampositiven, anaeroben Kokken waren im Vergleich zum Grundstatus erhöht. Erstere um 21,4 Prozent und letztere um 14,3 Prozent der Gesamtflora. Keine Veränderung vom Grundstatus zu Tag 28 zeigte sich bei den gramnegativen, aeroben Stäbchen.

Die prozentuale Verteilung der Bakterienspezies der Katze 12 an Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs ist in Abbildung 34 dargestellt.

**Tabelle 51: Bakterielle Maulflora der Katze 12 (EGCG/LF-Gruppe) an Tag 28; (sp. = Spezies)**

		aerob	anaerob
grampositiv	Kokken	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Staphylococcus chromogens</i> <i>Streptococcus oralis</i> <i>Streptococcus mitis</i>	<i>Peptostreptococcus</i> sp. <i>Streptococcus intermedius</i>
	Stäbchen	<i>Arthrobacter</i> sp. <i>Cellulomonas</i> sp. <i>Corynebacterium propinquum</i>	<i>Actinomyces viscosus</i> <i>Eubacterium lentum</i>
gramnegativ	Kokken		<i>Veilonella</i> sp.
	Stäbchen	<i>Moraxella</i> sp. <i>Pasteurella</i> sp.	



**Abbildung 34:** : Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 12 (EGCG/LF-Gruppe) an Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen

### 2.3.5.2 In vitro

Die Wirkung von EGCG und Lactoferrin im einzelnen wurde bereits in einer vorangegangenen Fütterungsstudie (Gorissen) getestet. Beide Substanzen hatten einen antibakteriellen Effekt.

Die Wirkung verschiedener Konzentrationen von EGCG in Kombination mit LF wurde in vitro auf mit Bakteriensuspension bestrichenen Blutagarplatten getestet. Nachdem in das Loch ( $\emptyset$  1cm) in der Mitte des Nährbodens EGCG und LF verbracht worden war, wurden die Agarplatten bei  $+37^{\circ}\text{C}$  aerob für 24 Stunden und anaerob für 48 Stunden inkubiert. Zusätzlich wurden die Hemmwirkung nach dem gleichen Verfahren auf Müller-Hinton-Agar getestet. Die Hemmhöfe wurden immer vom Rand des Lochs aus in cm gemessen.

Auf der aerob bebrüteten Blutagarplatte mit der EGCG/LF-Konzentration von 135 mg/135 mg zeigte sich ein doppelter Hemmhof. Während in einem Umkreis von 0,5 cm keine Kolonien vorgefunden wurden, wuchsen in einem Umkreis von weiteren 0,5 cm nur kleine, durch-

sichtige Kolonien. Außerhalb dieser insgesamt 1,0 cm zeigten sich die normalen Keime der Maulhöhle. Auf der anaerob inkubierten Agarplatte mit der gleichen EGCG/LF-Konzentration wurde das Keimwachstum in einem Umkreis von 1,0 cm gehemmt, so dass in diesem Bereich keine Kolonien entstanden. Der aerobe Blutagar zeigte bei dieser Wirkstoffkonzentration in einem Umkreis von 0,5 cm eine dunkle, schwarzgrüne Verfärbung. In einer Zone von weiteren 1,0 cm wurde der Agar hämolytisch und verfärbte sich nach diesem Bereich bräunlich in einem Umkreis von 0,5 cm. Auf dem anaerob bebrüteten Agar zeigte sich eine graue Verfärbung unterschiedlicher Intensität in einem Umkreis von 1,0 cm.

**Tabelle 52 In vitro entstandene Hemmhöfe in cm auf mit Bakteriensuspension bestrichenem Blutagar durch 135/135 mg, 13,5/ 13,5 mg, 1,35/1,35 mg und 0/0 mg (Kontrolle) Epigallocatechin Gallat / Lactoferrin (EGCG/LF) nach aerober (24 h) und anaerober (48 h) Inkubation bei 37 °C**

EGCG/LF in mg/mg	Bebrütung	Hemmhof	Reaktion des Blutagars
135/135	aerob	Ø 0,5 cm kein Wachstum Ø 1,0 cm kleine, durchsichtige Kolonien	Ø 0,5 cm dunkle, schwarzgrüne Ver- färbung Ø 1,5 cm Hämolyse Ø 2,0 cm braune Verfär- bung
	anaerob	Ø 1,0 cm kein Wachstum	Ø 1,0 cm graue Verfärbung unterschiedlicher Intensität
13,5/13,5	aerob	Ø 0,2 cm kein Wachstum Ø 0,5 cm geringes Wachstum	Ø 0,5 cm Hämolyse
	anaerob	Ø 0,6 cm kein Wachstum	-
1,35/1,35	aerob	Ø 0,1 cm geringes Wachstum	-
	anaerob	-	-
0/0 (Kontrolle)	aerob	-	-
	anaerob	-	-

Bei der Konzentration von 13,5 mg/13,5 mg EGCG/LF ergab sich auf der aerob bebrüteten Agarplatte wieder ein doppelter Hemmhof. Während in einem Umkreis von 0,2 cm keine Kolonien vorgefunden wurden, wuchsen in einem Umkreis von weiteren 0,5 cm nur kleine, durchsichtige Kolonien. Außerhalb dieser insgesamt 0,7 cm zeigten sich die normalen Keime der Maulhöhle. Auf dem anaerob bebrüteten Nährboden mit einer EGCG/LF-Konzentration von 13,50 mg/13,50 mg zeigte sich ein Hemmhof von 0,6 cm, in dem kein Keimwachstum



stattfand. Bei dieser Wirkstoffkonzentration zeigte sich nur auf dem aeroben Agar eine Hämolyse in einem Bereich von 0,5 cm um das Loch in der Mitte des Agars.

Auf dem aerob bebrüteten Nährboden mit einer Konzentration von 1,35 mg/1,35 mg EGCG/LF zeigte sich in einem Umkreis von 0,1 cm eine Zone ohne Keimwachstum.

Auf dem anaerob bebrüteten Nährboden mit EGCG/LF in einer Konzentration von 1,35 mg/1,35 mg und auf den Kontrollplatten, die aerob und anaerob ohne Zugab von EGCG/LF inkubiert wurden, zeigten sich keine Hemmhöfe.

Tabelle 32 gibt einen Überblick über die entstandenen Hemmhöfe.

Auf der aerob und anaerob bebrüteten Müller-Hinton-Agar mit der EGCG/LF-Konzentration von 135,00 mg/135,00 mg zeigte sich in einem Umkreis von 1,5 cm ein Hemmhof. Außerhalb dieser Zone zeigten sich die normalen Keime der Maulhöhle. Der aerobe Nährboden verfärbte sich braun in einem Umreis von 1,5 cm, während der anaerobe nur in einem Umkreis von 0,2 cm hellbraun wurde.

**Tabelle 53: In vitro entstandene Hemmhöfe in cm auf mit Bakteriensuspension bestrichenem Müller-Hinton-Agar durch 135/135 mg, 13,5/ 13,5 mg, 1,35/1,35 mg und 0/0 mg (Kontrolle) Epigallocatechin Gallat / Lactoferrin (EGCG/LF) nach aerober (24 h) und anaerober (48 h) Inkubation bei 37 °C**

EGCG/LF in mg	Bebrütung	Hemmhof	Reaktion des Agars
<b>13,5 / 13,5</b>	aerob	Ø 1,5 cm kein Wachstum	Ø 1,5 cm braune Verfärbung
	anaerob	Ø 1,5 cm kein Wachstum	Ø 0,2 cm helle Verfärbung
<b>1,35 / 1,35</b>	aerob	Ø 1,0 cm kein Wachstum	Ø 0,7 cm dunkle Verfärbung
	anaerob	Ø 0,8 cm kein Wachstum	-
<b>0,135 / 0,135</b>	aerob	Ø 0,7 cm kein Wachstum	-
	anaerob	Ø 0,2 cm kein Wachstum	-
<b>0 / 0 (Kontrolle)</b>	aerob	-	-
	anaerob	-	-
		-	-

Bei der Konzentration von 13,5 mg/13,5 mg EGCG/LF ergab sich auf der aerob bebrüteten Agarplatte ein Hemmhof von 1,0 cm. Auf dem anaerob bebrüteten Nährboden mit der gleichen EGCG/LF-Konzentration zeigte sich ein Hemmhof von 0,8 cm, in welchem kein Keim-

wachstum stattfand. Nur der aerobe Müller-Hinton-Agar verfärbte sich dunkel in einem Umkreis von 0,7 cm.

Auf dem aerob bebrüteten Nährboden mit einer Konzentration von 1,35 mg/1,35 mg EGCG/LF entstand in einem Umkreis von 0,7 cm eine Zone ohne Keimwachstum. Der anaerobe Agar zeigte einen Hemmhof von 0,2 cm.

Auf den Kontrollplatten, die aerob und anaerob ohne Zugabe von EGCG/LF inkubiert wurden, wuchsen die üblichen Keime der Maulhöhle ohne Hemmhöfe.

Tabelle 53 gibt einen Überblick über die entstandenen Hemmhöfe

## **E Diskussion**

### **1 Aufbau und Durchführung der Fütterungsstudie**

#### **1.1 Studiendesign**

Für die Fütterungsstudie standen insgesamt 18 institutseigene Katzen, die schon mehrmals in Fütterungsstudien eingesetzt worden waren, zur Verfügung. Diese Tiere waren bereits an die Ernährung durch kommerzielle Trockenfutter gewöhnt. In früheren Studien hatten sie sich auch als kooperativ bei Blutabnahmen gezeigt.

Voraussetzung für die Teilnahme an der Fütterungsstudie war ein klinisch einwandfreier Gesundheitszustand. Vor, während und bei Abschluss der Fütterungsstudie zeigten alle beteiligten Tiere ein ungestörtes Allgemeinbefinden. Die aus den beurteilten Maulhöhlenparametern und Proben gewonnenen Daten ließen sich daher im Sinne der formulierten Fragestellung der vorliegenden Arbeit nach dem Einfluss von Vitamin C und EGCG in Kombination mit Lactoferrin auf die Zahngesundheit der Katze, auswerten.

Die Einteilung in zwei gleiche Gruppen erfolgte nach Alter, Gewicht und Geschlecht um zwei vergleichbare Gruppen zu erhalten. Die Randomisierung der Katzen nach dem Alter war insofern wichtig, da der zu beurteilende Zustand des Gebisses und die Werte des antioxidativen Status unter anderem vom Alter abhängig sind. Außerdem wurde darauf geachtet, dass die Katzen innerhalb der gewählten Gruppen eine ähnliche Plaque- und Zahnsteinbildungstendenz aufwiesen, die bereits in der vorangegangenen Fütterungsstudie (Gorrisen, 2004) untersucht worden waren. Dadurch ließ sich in der vorliegenden Studie die Variabilität innerhalb der Gruppen in Bezug auf eine individuell unterschiedliche Plaqueakkumulation und Zahnsteinbildung reduzieren.

Um die Katzen in ihrer gewohnten Haltungsgruppe zu belassen, wurde eine zweimalige Fütterung pro Tag einer ad libitum Fütterung vorgezogen. Dadurch konnten die meisten Katzen in gewohnter Umgebung ihr Futter aufnehmen und die Tiere, die in Einzelboxen gefüttert werden mussten, konnten meist schon nach einer halben Stunde in ihre Gruppe zurückgesetzt werden. Bei einer ad libitum Fütterung hätte man die einzeln zu fütternden Katzen nicht in ihrer Gruppe belassen können, da so keine Kontrolle darüber stattgefunden hätte, welche Katze Kontroll- oder Versuchsfutter gefressen hätte.

Für die einzelnen Versuchsphasen wurde eine Dauer von vier Wochen gewählt. Es wurde sich dabei nach dem Peak der Zahnsteinbildung gerichtet, das 4 Wochen nach Zahnreinigung erreicht ist (Boyce, 1992). Innerhalb dieser Zeitspanne konnten alle zu erhebenden Parameter aussagekräftig beurteilt werden. Der Untersuchungszeitraum von 4 Wochen berücksichtigte auch die eingeschränkte Toleranz der Katzen im Hinblick auf wiederholtes Handling und Narkosen.

Die Narkosen waren an Tag 0 und Tag 28 der jeweiligen Versuchsphase nötig, zum einen um eine korrekte Reinigung der Maulhöhle durchzuführen und zum anderen um die zu erhebenden Parameter in Ruhe und korrekt zu bestimmen. Wären die Katzen nicht anästhesiert worden, hätte zudem mit Abwehrbewegungen der Tiere während der Reinigung und Untersuchung der Maulhöhle gerechnet werden müssen. Dies hätte für die Katzen selbst sowie für den Untersucher ein erhebliches Verletzungsrisiko dargestellt.

Zur Durchführung der relativ häufigen und in kurzen Abständen aufeinander folgenden Narkosen wurde eine besonders schonende Anästhesie gewählt, sowie ein umfangreiches Monitoring durchgeführt, um das Narkoserisiko möglichst gering zu halten.

## **1.2 Versuchsfutter**

Sowohl die eingesetzten Versuchsfutter mit Vitamin C und EGCG in Kombination mit Lactoferrin als auch das Kontrollfutter wurden von allen Katzen gut akzeptiert. Es gab keine Hinweise auf eventuelle deutliche Geschmackspräferenzen oder eine Ablehnung eines der drei eingesetzten Futtermittel. Die gleichwertige Akzeptanz von jeweiligem Versuchs- und Kontrollfutter erlaubte es, diese eingesetzten Futtermittel hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Maulhöhle der Katze zu vergleichen.

Im Vitamin C-Versuch wurde eine Konzentration von 2340 mg Natrium Ascorbyl Monophosphat pro kg Futter eingesetzt, so dass eine Katze pro kg KM durchschnittlich etwa 50 mg Natrium Ascorbyl Monophosphat am Tag erhielt. Beim Menschen zeigte sich bereits bei der Supplementierung von etwa 10 mg Ascorbinsäure pro kg KM und Tag eine verminderte Neigung zu Gingivitis und Zahnfleischbluten (Jacob et al., 1987). In vitro konnte Goldschmidt (1991) schon ab einer Konzentration von 0,25 mg Ascorbinsäure pro Nährboden einen hem-

menden Effekt auf das Wachstum bestimmter oraler Bakterien nachweisen. Diese Hemmwirkung wurde mit steigender Konzentration größer. Da für die Katze eine Dosis von etwa 100 mg phosphorierter Ascorbinsäure zu Schleimhautirritationen führen kann (Maiwald, 1994), wurde in diesem Versuch in etwa die Hälfte dieser Dosis gewählt. Damit war die Wirkung von Vitamin C auch bei geringerer Futteraufnahme gesichert und die Tiere konnten, auch wenn sie in der Gruppenhaltung mehr als die ihnen zugeteilte Ration fraßen, kaum 100 mg Vitamin C / kg KM und Tag zu sich nehmen.

Das Polyphenol Epigallocatechin Gallat wurde im EGCG/LF-Versuch mit einer Dosis von etwa 6,6 mg pro kg KM und Tag eingesetzt. Katzen gelten als besonders empfindlich gegenüber phenolischen Verbindungen, weil der Abbau dieser Verbindungen teilweise nur verzögert stattfindet bzw. die Phenole sulfatiert werden. Dies bedeutet jedoch nicht, dass Katzen generell keine phenolischen Verbindungen aufnehmen dürfen, vielmehr muss die Dosierung dieser Substanzen richtig gewählt sein. Die LD 50 für Phenol liegt bei der Katze zwischen 80 bis 120 mg pro kg KM. Wurde früher vor der Anwendung von Acetyl-salicylsäure bei der Katze wegen des im Molekül enthaltenen Phenolrings gewarnt, so ist heute der Einsatz in einer Dosierung von 10 bis 25 mg pro kg KM bei bestimmten Indikationen durchaus üblich (Plumb, 1995).

EGCG wirkt beim Menschen in Dosen, die etwa in einer Tasse Grüntee enthalten sind, antibakteriell und hemmt die Plaque- und Kariesbildung an Zähnen. Der Gehalt an EGCG pro Tasse beträgt etwa 100 bis 150 mg (Metz, 2000). Für den Menschen erhält man dann je nach dessen Gewicht eine Dosis von möglicherweise 1,25 bis 3 mg pro kg KM. In der Dissertation von Gorrissen (2004) wurde Katzen eine Dosis von ca. 5 mg EGCG pro kg KM und Ration verabreicht. Da sich dabei aber nur tendenzielle Verbesserungen in Bezug auf die Zahngesundheit der Katzen zeigten, wurden in der vorliegenden Studie eine höhere Dosierung (6,6 mg pro kg KM und Tag) gewählt. Bei dieser Dosis konnte von einer Wirkung auf die in dieser Studie zu beurteilenden Parameter ausgegangen werden, ohne dass toxische Wirkungen durch EGCG zu erwarten gewesen wären.

Der Einsatz von Lactoferrin im EGCG/LF-Versuch erfolgte in der gleichen Dosis wie EGCG mit 6,6 mg pro kg KM und Tag. Bei dieser Dosierung war bei weitem kein toxischer Effekt durch Lactoferrin zu erwarten.

## **2 Einfluss von Vitamin C und EGCG in Kombination mit Lactoferrin auf die Maulhöhlenparameter – Wahl der Methode und Ergebnisse**

Ziel dieser Studie war es durch die Gabe von Vitamin C und EGCG in Kombination mit Lactoferrin Einfluss auf die Zahngesundheit der Katzen zu nehmen. Alle drei Substanzen besitzen antibakterielle Eigenschaften und haben positive Effekte auf das Immunsystem. Es liegen zahlreiche Studien vor, bei denen es durch antibakteriell wirksame Substanzen oder auch durch Immunmodulatoren in der Mund- bzw. Maulhöhle zu einem positiven Einfluss auf die Gingiva und die Plaque- und Zahnsteinbildung kommt.

Zur Erfassung der Veränderungen in der Maulhöhle der Katzen durch Vitamin C und EGCG in Kombination mit Lactoferrin wurden neben der Halitosismessung und der bakteriologischen Untersuchung Indizes verwendet. Indizes sind numerische Ausdrücke definierter diagnostischer Kriterien. Eine Veränderung bzw. der Schweregrad einer Erkrankung werden also durch Ziffern bezeichnet. Ein guter Index macht quantitative und qualitative Aussagen über die untersuchten Kriterien, ist einfach, objektiv, reproduzierbar, rasch und praktisch anwendbar und sollte auch statistisch bearbeitbar sein (Rateitschak, 1989). Die in dieser Studie gewählten Indizes entsprachen diesen Kriterien.

Die Indizes wurden nicht an allen Zähnen erhoben. Die Incisivi, die Molaren 1 im Oberkiefer, die Prämolaren 2 im Oberkiefer und die Prämolaren 3 im Unterkiefer wurden nicht beurteilt, da diese Zähne relativ klein sind und daher eine korrekte Erhebung der Indizes nicht möglich ist (Boyce, 1992).

Die Messung aller Indizes erfolgte stets durch denselben Untersucher, um zu verhindern, dass Unterschiede durch verschiedene Wahrnehmungen entstanden.

### **2.1 Halitosis**

Um zu überprüfen, ob Vitamin C und EGCG in Kombination mit Lactoferrin eine Verminderung des Maulgeruchs der Katzen bewirkte, wurde die Atemluft zu Versuchsanfang und –ende organoleptisch beurteilt und die reduzierten Schwefelkomponenten, die hauptsächlich für einen schlechten Geruch der Atemluft verantwortlich sind, mit dem Halimeter gemessen. Zunächst wurde die organoleptische Bestimmung durchgeführt. Auch hier überprüfte immer

derselbe Untersucher die Atemluft aller Katzen, dadurch konnten abweichende Messungen durch unterschiedliche Wahrnehmung von Gerüchen durch verschiedene Untersucher vermieden werden. Um Verfälschungen des Geruchs der Atemluft zu vermeiden, wurde unmittelbar vor der organoleptischen Untersuchung vom Untersucher keine Nahrung aufgenommen sowie die Anwendung intensiv riechender Cremes, Seifen, Deos, etc. vermieden. Die organoleptische Messung war trotz Einsatz des Halimeters nötig, da Halimetewerte kein absoluter Beweis für Halitosis sind. Die Werte der durch das Halimeter gemessenen reduzierten Schwefelkomponenten variieren mit der Tageszeit oder können auch von anderen Faktoren beeinflusst werden. Zusammen mit der organoleptischen Messung diente das Halimeter zur neutralen Dokumentation und vor allem zur Verfolgung des Behandlungsverlaufes.

Im Vitamin C- und EGCG/LF-Versuch ergaben sich bei der organoleptischen Halitosismessung und bei der Messung der in der Atemluft befindlichen Schwefelkomponenten mittels Halimeter keine signifikanten Unterschiede - weder zwischen den Gruppen an Tag 28 noch innerhalb der jeweiligen Gruppe von Tag 0 auf Tag 28. Somit hatte weder Vitamin C noch EGCG in Kombination mit Lactoferrin einen Einfluss auf den Geruch der Atemluft.

## **2.2 Gingivitisindex**

Um feststellen zu können, ob Vitamin C bzw. EGCG in Kombination mit Lactoferrin einen Einfluss auf den Zustand der Gingiva hatten, wurde der Zustand der Gingiva mittels eines Gingivitisindex zu Versuchbeginn und Versuchsende bestimmt. Für die Erfassung der Gingivitis und ihres Schweregrades existieren viele verschiedene Indizes. Bei Studien mit kleinerem Probandengut sind vor allem Indizes geeignet, die unter anderem als Leitsymptom die Blutungsbereitschaft berücksichtigen (Rateitschak, 1989). Deshalb wurde in der vorliegenden Studie der Gingivitisindex nach Logan et al. (1992) gewählt, der den Entzündungsgrad des Zahnfleisches anhand der Rötung und Blutungsneigung der Gingiva beurteilt.

Durch die Fütterung von Vitamin C ergab sich für den Gesamtgingivitisindex bei Kontrollgruppe und Vitamin C-Gruppe kein signifikanter Unterschied - weder zwischen den beiden Gruppen noch von Tag 0 auf Tag 28 innerhalb der Gruppen. Auch in anderen humanmedizinischen Studien zeigten sich keine signifikanten klinischen Veränderungen der Gingiva durch hohe Dosierungen an Vitamin C (Woolfe et al., 1984). Die Ergebnisse dieser Studien weisen aber darauf hin, dass durch Ascorbinsäure die frühen Gingivitis-Stadien und die Blutungsbe-

reitschaft der Gingiva verzögert und damit positiv beeinflusst werden können (Jacob et al., 1987; Leggott et al., 1986).

Im EGCG/LF-Versuch dagegen, wurde ein signifikanter Unterschied innerhalb der EGCG/LF-Gruppe von Tag 0 auf Tag 28 festgestellt. Der Wert für den Gesamtgingivitisindex verringerte sich um 46 Prozent. Zudem ergab sich beim Vergleich der Differenzen von Tag 0 auf Tag 28 der Kontroll- und der Wirkstoffgruppe ein p-Wert von 0,057, der nahe an dem als signifikant zu bezeichnenden Bereich lag. Es konnte also ein positiver Effekt auf die Gingiva durch die Kombination von EGCG mit Lactoferrin abgeleitet werden. Dieser Effekt lässt sich möglicherweise zum einen durch die antibakterielle Wirkung der beiden Substanzen und zum anderen durch die Modulation des Immunsystems erklären. Durch die verminderte Ansiedlung von Bakterien kommt es folglich kaum zu toxischen, bakteriellen Stoffwechselprodukten, die das parodontale Gewebe und damit die Gingiva schädigen könnten. Gereizte und entzündete Gingiva hatte so eventuell die Möglichkeit sich zu regenerieren. Da in der Arbeit von Gorrissen (2004), in der EGCG und Lactoferrin separat auf ihren Einfluss auf parodontale Erkrankungen der Katze geprüft wurden, eine positive Wirkung auf die Gingiva nicht auftrat, kann möglicherweise von einer Potenzierung der Wirkung der Substanzen durch ihre Kombination ausgegangen werden.

### 2.3 Sondierungstiefe

Mit der Sondierungstiefe wird die Tiefe des gingivalen Sulcus gemessen. Dieser umgibt den ganzen Zahn und hat bei der Katze nach Hennet (1995a) physiologisch eine Tiefe von 0 bis 1 mm. Dobrescu (1993) dagegen beschreibt eine Sulcustiefe von maximal 0,5 mm als physiologisch. Demnach wird ein Sulcus, der bei der Katze tiefer als 1 mm ist, als Zahnfleischtasche bezeichnet. In einer solchen Tasche können sich Bakterien besonders gut ansiedeln und das umliegende parodontale Gewebe weiter schädigen. Die Messung der Tiefe des gingivalen Sulcus erfolgte zu Versuchsbeginn und –ende, um feststellen zu können, ob durch die Fütterung von Vitamin C oder EGCG in Kombination mit Lactoferrin eine Reduzierung der Sulcustiefe erreicht werden konnte.

Die Sondierung des gingivalen Sulcus erfolgte mit einer druck-kalibrierten Sonde (0,2 Newton). Der Vorteil lag darin, dass durch diese Sonde eine Gewebeschädigung durch Sondierung mit zu starkem Druck vermieden und der gingivale Sulcus stets mit gleichem Druck un-



tersucht werden konnte. So konnte die Messung der Tiefe des gingivalen Sulcus unter standardisierten Bedingungen stattfinden.

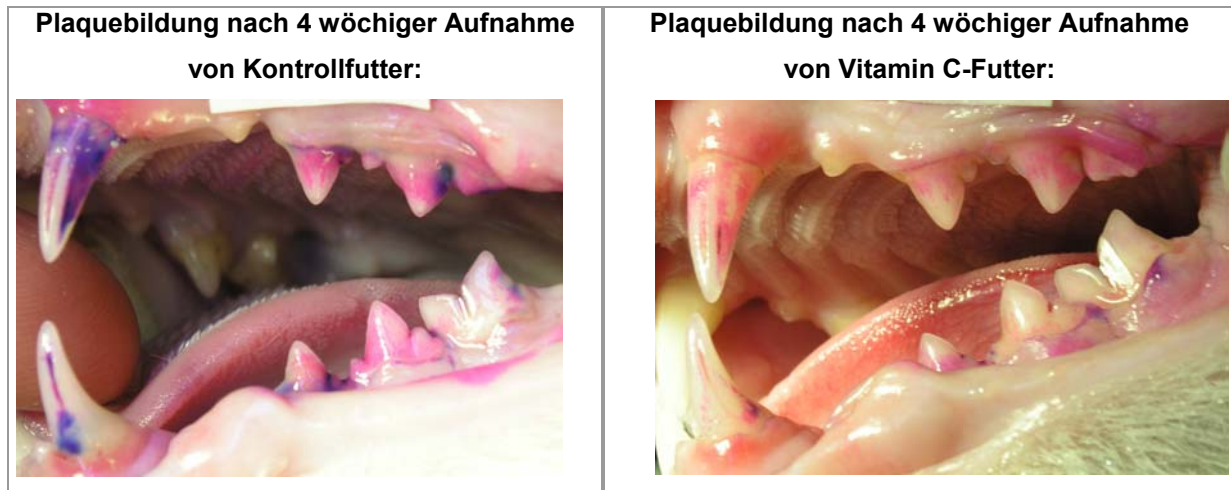
Im Vitamin C-Versuch ergab sich bei der Gesamtsondierungstiefe von Kontroll- und Vitamin C-Gruppe kein signifikanter Unterschied - weder zwischen den beiden Gruppen noch von Tag 0 auf Tag 28 innerhalb der Gruppen. Bei beiden Gruppen zeigte sich aber insgesamt die Tendenz zu einer verringerten Sulcustiefe von Tag 0 auf Tag 28. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass beim Scaling und der Politur an Tag 0 auch der Sulcus gereinigt wurde, und damit bereits ein geringer Attachmentgewinn erzielt wurde. Bei der Vitamin C-Gruppe war dieser Attachmentgewinn geringfügig (0,04 mm) größer als bei der Kontrollgruppe.

Im EGCG/LF-Versuch wurde ein signifikanter Unterschied für die Gesamtsondierungstiefe beim Vergleich der beiden Gruppen von Tag 0 auf Tag 28 festgestellt. Es ergab sich ein Attachmentgewinn von durchschnittlich 0,22 mm, während dieser bei der Kontrollgruppe nur 0,01 mm betrug. Diese Verbesserung der Sulcustiefe lässt sich nur wie schon beim Gingivitisindex durch die antibakterielle Wirkung und die Immunmodulation durch die in Kombination gefütterten Substanzen erklären (siehe Kapitel E 2.2). Durch diesen Index zeigte sich zusätzlich, dass nicht nur eine Verbesserung des Zustands der Gingiva durch die Fütterung des EGCG/LF-Futters stattfand sondern auch ein Attachmentgewinn im Sinne eines „new attachment“ (epitheliale Regeneration) erfolgte.

## **2.4 Plaqueindex**

Der Plaqueindex wurde nach Sichtbarmachen der Plaquebeläge durch einen Plaqueindikator nur an Tag 28 beurteilt. An Tag 0 wurde ein gründliches Scaling mit anschließender Politur durchgeführt, zur Überprüfung auf Plaquefreiheit wurde im Anschluss auf die Zähne ein Plaqueindikator aufgetragen. Färbten sich dabei noch einzelne Stellen im Gebiss an, so wurden diese Stellen nochmals poliert, bis auch dort keine Beläge mehr nachzuweisen waren. Dieses Vorgehen erlaubte es, den Plaque- und auch den Zahnsteinindex an Tag 0 gleich 0 zu setzen und damit für die Neubildung von Plaque und Zahnstein zu Versuchsbeginn gleiche Ausgangsbedingungen zu schaffen. Die Anfärbung der Plaquebeläge erfolgte mit MIRA-2-TON-Lösung. Sie zählt zu den zweifarbigen Plaqueindikatoren, die mit den Lebensmittelfarbstoffen Phloxin B und Patentblau als nicht toxisch und nicht allergen eingestuft werden. Erythrosinlö-

sung, die das klassische Anfärbemittel für Plaque ist, wurde nicht verwendet, da sie Jodverbindungen enthält, die allergische Reaktionen auslösen können (Schäfer, 2002).



**Abbildung 35: Vergleich der Plaquebildung nach Aufnahme von Kontroll- und Vitamin C-Futter an Tag 28 des Vitamin C-Versuchs**

Im Vitamin C-Versuch ergab sich an Tag 28 ein signifikanter Unterschied zwischen dem Gesamtplaqueindex von Kontroll- und Vitamin C-Gruppe. Bei der Vitamin C-Gruppe war die Plaquebildung insgesamt um 20 Prozent geringer als bei der Kontrollgruppe. Es fiel auf, dass die Plaquebildung jeweils vor allem an den Molaren 1 im Unterkiefer sowie an den Prämolaren 4 im Oberkiefer stark reduziert war. Möglicherweise lässt sich diese auffällige Reduktion dadurch erklären, dass das Vitamin C-Futter mit diesen Zähnen den intensivsten Kontakt hatte, da es dort zerbissen wurde. Abbildung 35 zeigt den Unterschied in der Plaquebildung zwischen den beiden Gruppen exemplarisch anhand von zwei Tieren. Bei der Katze der Kontrollgruppe zeigt sich deutlich die starke Plaqueakkumulation. Die blaue Anfärbung zeigt die Plaque an, die älter als 24 h ist, während sich jüngere Plaque rot darstellt. Die Plaque der Katze aus der Vitamin C-Gruppe hat sich überwiegend rot angefärbt und die Anfärbung ist insgesamt nicht so intensiv im Vergleich zur Katze der Kontrollgruppe. Die wenig intensive und rote Anfärbung weisen auf eine geringe Plaqueakkumulation bei dieser Katze hin.

Die Eigenschaft, dass Vitamin C die Plaqueakkumulation vermindert, wurde bereits beim Menschen und anderen Tierarten beobachtet (Clarke, 2001; Goldschmidt, 1991). Eine Erklärung, wie die Plaquebildung beeinflusst wird, liefert aber keine dieser Studien. Am wahrscheinlichsten ist, dass Vitamin C durch seine antibakterielle Aktivität eine starke Akkumulation von Bakterien nicht nur *in vitro* sondern auch *in vivo* verhindert. Ob an der Beeinflus-

sung der Plaquebildung durch Vitamin C noch andere Faktoren wie etwa eine Beeinflussung der Speichelzusammensetzung beteiligt sind, bleibt noch zu klären.

Im EGCG/LF-Versuch wurde kein signifikanter Unterschied zwischen dem Gesamtplaqueindex von Kontroll- und Vitamin C-Gruppe festgestellt. Insgesamt war der Gesamtplaqueindex der EGCG/LF-Gruppe jedoch tendenziell niedriger als bei der Kontrollgruppe. Bei einzelnen Zähnen zeigten sich zudem Unterschiede, die mit einem p-Wert von 0,052 und 0,056 nur knapp über dem als signifikant zu bezeichnenden Bereich lagen.

## **2.5 Zahnsteinindex**

Die Beurteilung des Zahnsteins bei Kontroll- und Wirkstoffgruppe zu Versuchsende erfolgte, um den Einfluss von Vitamin C bzw. EGCG in Kombination mit Lactoferrin auf dessen Bildung festzustellen. Dazu wurde der Zahnsteinindex nach LOGAN (1996) gewählt. Wie zur Beurteilung des Plaqueindex wurde an Tag 0 der jeweiligen Versuchsphase der Zahnstein entfernt, um bei allen Katzen gleiche Bedingungen für die Neubildung zu schaffen (siehe Kapitel E 2.4) und nach 4 Wochen Kontroll- und Versuchsgruppe vergleichen zu können.

Im Vitamin C- und EGCG/LF-Versuch ergaben sich zwischen Kontroll- und Wirkstoffgruppe an Tag 28 beim Zahnsteinindex keine signifikanten Unterschiede. Bei beiden Wirkstoffgruppen konnten jedoch tendenziell niedrigere Werte im Vergleich zu den Kontrollgruppen festgestellt werden. Im Vitamin C-Versuch war der Gesamtzahnsteinindex um 14 Prozent geringer als bei der Kontrollgruppe.

Beim EGCG/LF-Versuch war der Gesamtzahnsteinindex der EGCG/LF-Gruppe um 4 Prozent geringer als bei der Kontrollgruppe.

## **2.6 Furkations- und Mobilitätsindex**

Die Erhebung des Furkations- und Mobilitätsindex wurde durchgeführt, um Substanzverluste im Zahnhalteapparat oder deren Verbesserung dokumentieren zu können. In beiden Versuchsphasen konnte zu keinem Zeitpunkt weder eine Furkation sondiert noch eine Mobilität festgestellt werden. Dies spricht für einen allgemein sehr guten Zustand der Maulhöhle der 18 Katzen. Dieser dürfte unter anderem auch dadurch bedingt sein, dass im vorangegangenen

Versuch (Gorissen, 2004) bereits im Abstand von zwei Monaten zweimal eine gründliche Säuberung und Pflege der Zähne stattgefunden hatte.

Diese Indizes bieten sich vor allem bei bereits Parodontalerkrankten zur Dokumentation des Verlaufes der Erkrankung an, da sich bei diesen Verbesserungen oder Verschlechterungen wahrscheinlich schneller und deutlicher darstellen.

### **3 Laborbestimmungen**

#### **3.1 Durchführung der Probenentnahmen**

Die Blutproben zur Analyse des Blutbildes, der TEAC, der Nierenwerte sowie zur Bestimmung des Vitamin E, Vitamin C und EGCG-Gehaltes wurden immer 3 Stunden nach der Fütterung der Katzen entnommen. Die postprandiale Entnahme war nötig, um nachzuverfolgen, wie viel Vitamin C bzw. EGCG nach der Fütterung ins Plasma gelangte. In einer Studie über den Ascorbinsäurestoffwechsel bei der Katze zeigten sich für Vitamin C bis 4 Stunden nach der Fütterung Maximalwerte im Plasma (Maiwald, 1994). EGCG konnte in der Arbeit von Gorissen (2004) 2 Stunden nach Gabe eines EGCG-haltigen Futters nicht nachgewiesen werden. In der vorliegenden Studie wurde sich deshalb nach dem im Plasma zu erwartenden Vitamin C-Peak gerichtet. Weil unklar war, ob überhaupt nachweisbare Mengen an EGCG ins Plasma gelangen konnten, wurde auch im EGCG/LF-Versuch eine Stunde länger als in der Studie von Gorissen zwischen Fütterung und Blutabnahme gewartet, um möglicherweise einen später ansteigenden EGCG-Spiegel im Plasma zu erfassen.

Da es meist sehr lange dauerte das Volumen von etwa 3,5 ml Blut, das den Katzen für alle Bestimmungen abgenommen werden musste, zu bekommen, wurden die Proben zur Bestimmung der Leber-, Fruktosamin- und CK-Werte unter Narkose gewonnen. Dadurch konnte die Blutabnahme für die Katzen möglichst stressfrei erfolgen.

Die Proben von der Plaque und aus dem gingivalen Sulcus wurden vor allen anderen Manipulationen an der Maulhöhle unter Narkose entnommen. Dadurch wurden mögliche Verfälschungen der Flora durch den Untersucher vermieden.

Die Auswahl der Zähne, von denen die Proben zur bakteriologischen Untersuchung entnommen wurden, begründete sich darauf, dass die anschließend bestimmten Indices möglichst nicht beeinträchtigt werden sollten. Der Prämolare 3 im linken Unterkiefer erwies sich für die Tupferprobenentnahme als sinnvoll, da er nicht für die Bestimmung der Maulhöhlenparameter

herangezogen wurde und er eine genügend große Fläche zur Entnahme der Plaque mit dem Tupfer bot. Interessanter wären wahrscheinlich Plaqueproben von den Prämolaren und Molaren gewesen, da sie in der Nähe der Ausführungsgänge der Speicheldrüsen liegen, und sich deshalb dort Plaque und Zahnstein sehr schnell bilden (Boyce, 1992). Hätte man die Plaqueproben für die bakteriologische Untersuchung dort entnommen wäre allerdings die anschließende Bestimmung des Plaqueindex nicht mehr möglich gewesen.

Die Entnahme der Paperpoint-Proben aus dem gingivalen Sulcus wurde an den Canini des linken Ober- und Unterkiefers an der mesialen Fläche durchgeführt, da dort das Risiko einer Kontamination der Papierspitze durch umliegende Strukturen wie z.B. Haare, Lippe und Zunge der Katze am geringsten war.

### **3.2 Blutbild, Leber-, Nierenwerte und Fruktosamin**

Die Bestimmung des Blutbildes und der Leber-, Nieren- und Fruktosaminwerte erfolgte neben der klinischen Untersuchung zur Überwachung des Gesundheitszustandes der 18 Katzen während des gesamten Versuchs.

Im Vitamin C- sowie im EGCG/LF-Versuch lagen die meisten Werte des roten und des weißen Blutbildes innerhalb der von Kraft und Dürr (1999) angegebenen Referenzbereiche. Die auffälligste Abweichung war die in allen Versuchen aufgetretene Eosinophilie. Der Referenzbereich für die eosinophilen Granulozyten liegt bei der Katze zwischen  $0,04$  bis  $0,60 \times 10^9/l$ .

Im Vitamin C-Versuch lag der durchschnittliche Wert der eosinophilen Granulozyten je nach Gruppe 38 bis 58 Prozent über diesem Referenzbereich. Während im EGCG/LF-Versuch Abweichungen von 20 bis 70 Prozent vom Referenzbereich festgestellt wurden. Nur der durchschnittliche Wert der EGCG/LF-Gruppe lag an Tag 28 im Referenzbereich. Die Differentialdiagnosen zur Eosinophilie sind unter anderem: Allergien, Parasitosen, Myositis eosinophilica, Panostitis eosinophilica, eosinophile Pneumonie, Infektionskrankheiten in der Heilphase, Hypadrenokortizismus und eosinophile Leukämie (Kraft und Dürr, 1999). Da sich aber bei der klinischen Untersuchung keine Anzeichen für diese Erkrankungen ergaben und sich die Differenzialdiagnosen einer Eosinophilie in einer Population nicht-verwandter Katzen auf Parasitenbefall reduzieren, kam bei dieser Studie nur noch ein Befall mit Giardien in Betracht. Der Kot aller Katzen wurde vor Versuchsbeginn auf Wurmbefall und auch auf Giardien untersucht und zusätzlich wurden die Katzen zu diesem Zeitpunkt auch entwurmt. Giardien - genauer gesagt die Zysten – werden diskontinuierlich über den Kot ausgeschieden. Es

könnte also sein, dass die Zysten bei der erfolgten Kotuntersuchung nicht nachzuweisen waren, obwohl eventuell ein Giardienbefall der Tiere vorlag.

Alle anderen Abweichungen von den Referenzbereichen waren nur geringgradig und meistens durch den Stress zu erklären, den die Tiere - trotz möglichst schonenden Handlings - während der Blutabnahme hatten. Insgesamt konnten also aus dem Blutbild keine schwerwiegenden Veränderungen und keine Erkrankungen während des gesamten Versuchs abgeleitet werden.

Die Leber-, Nieren- und Fruktosaminwerte lagen im Vitamin C-Versuch bei beiden Gruppen stets in den von Kraft und Dürr (1993) für die Katze angegebenen Referenzbereichen. Lediglich an Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs wurde im Serum für die EGCG/LF-Gruppe ein Harnstoffwert gemessen, der geringgradig über dem Referenzbereich lag. Der Referenzbereich liegt für Harnstoff bei 5,0 bis 11,3 mmol/l, der durchschnittliche Wert der EGCG/LF-Gruppe lag bei 11,64 mmol/l. Diese geringgradige Erhöhung ist allerdings kein Hinweis auf eine sich entwickelnde Niereninsuffizienz, da der durchschnittliche Kreatinin Wert dieser Gruppe mit 143,67 µmol/l innerhalb des Referenzbereiches von 0 bis 168 µmol/l lag. Kreatinin hat den Vorteil, dass es nicht nahrungsabhängig ist und auch vom endogenen Proteinmetabolismus nicht beeinflusst wird. Harnstoff dagegen kann wenige Stunden nach Aufnahme proteinreicher Nahrung vorübergehend erhöht sein. Da die Blutabnahme in dieser Studie postprandial durchgeführt wurde, ist die Erhöhung des Harnstoffwertes wahrscheinlich auf die 3 Stunden zuvor erfolgte Futteraufnahme zurückzuführen.

### **3.3 Einfluss von Vitamin C und EGCG in Kombination mit Lactoferrin auf den antioxidativen Status**

Die drei in diesem Versuch dem Futter zugesetzten Substanzen Vitamin C, EGCG und Lactoferrin sind Antioxidantien. Der Begriff Antioxidanz bezeichnet eine Substanz, die - auch wenn sie in geringerer Konzentration im Vergleich zu einer oxidierbaren Substanz vorliegt - die Oxidation dieser Substanz signifikant verzögert oder verhindert (Halliwell, 1995). In vivo können bei Stoffwechselfvorgängen und auch durch externe Einflüsse freie Radikale und reaktive Sauerstoffspezies entstehen. Einige dieser Radikale und reaktiven Sauerstoffspezies können schwere Schäden an biologischen Molekülen wie etwa Proteinen, Lipiden und der DNA verursachen. Antioxidantien können solche Schäden minimieren oder sogar verhindern (Halliwell, 1994). Vitamin C und E gehören unter anderen zu dem körpereigenen antioxidativen Abwehrsystem. In der lipophilen Phase der Zelle (z.B. in der Zellmembran) kann Vitamin

E (Tocopherol) sauerstoffbildende Radikale abfangen, indem es Peroxylradikale zu Hydroperoxyden umwandelt. Dabei wird es selbst zum Tocopherolradikal (Schmidt, 1997). Als nicht-enzymatisches Antioxidanz ist Vitamin C (Ascorbinsäure) an der Erhaltung der Vitamin E-Konzentration beteiligt, indem es Tocopherolradikale wieder zu Tocopherol reduziert (Keith, 1989). Es ist im Sinne eines antioxidativen Schutzfaktors tätig, indem es als Redoxsystem in den löslichen Bestandteilen der Zelle entstandene Radikale (z.B. Superoxidanionen, Hydroxylradikale) beseitigt. Neben Zystein, Glutathion und Harnsäure stellt Vitamin C dabei eines der wesentlichen wasserlöslichen Antioxidantien dar (Carr und Frei, 1999).

Um die Kapazität der im Serum befindlichen antioxidativen Substanzen (vor allem Ascorbinsäure,  $\alpha$ -Tocopherol, Bilirubin, Glutathion, Albumin und Harnsäure) zu messen, wurde die Methode nach Miller (1996) gewählt. Gemessen wird der antioxidative Status dabei in der Einheit TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity). Sie gibt die Konzentration von Trolox in mmol/l an, die die gleichwertige antioxidative Kapazität einer 1,0 mmol/l Lösung der zu untersuchenden Substanz besitzt. Durch die TEAC war es möglich den antioxidativen Status der jeweiligen Gruppen von Tag 0 auf Tag 28 bzw. die Gruppen zu Versuchsbeginn und Versuchsende miteinander zu vergleichen.

Im Vitamin C-Versuch war die TEAC der Kontrollgruppe zu Versuchsbeginn mit 67 mmol/l um etwa 12 Prozent höher als die der Vitamin C-Gruppe, bei der sie 55 mmol/l betrug. Zum Versuchsende unterschied sie sich bei der Kontrollgruppe signifikant um 24 Prozent im Vergleich zum Versuchsanfang. Ein Grund für diese Verschlechterung wurde allerdings nicht gefunden. Bei der Vitamin C-Gruppe fiel die TEAC nur um 2 Prozent zum Versuchsende. Dies zeigte, dass die Zugabe von Vitamin C zum Futter keine wesentliche Veränderung des antioxidativen Status bewirkte.

Beim EGCG/LF-Versuch stiegen die TEAC-Werte in beiden Gruppen an. In der Kontrollgruppe stieg er von 54 mmol/l auf 63 mmol/l und in der EGCG/LF-Gruppe von 61 mmol/l auf 76 mmol/l. Allerdings ergaben sich weder zwischen den beiden Gruppen noch von Tag 0 auf Tag 28 innerhalb der Gruppen signifikante Unterschiede. Es konnte folglich keine wesentliche Beeinflussung des antioxidativen Status durch EGCG in Kombination mit Lactoferrin festgestellt werden.

Im Vitamin C- und auch im EGCG/LF-Versuch ergaben sich zu keinem Zeitpunkt - weder zwischen den Gruppen noch von Tag 0 auf Tag 28 - signifikante Unterschiede für die Vitamin

E-Werte im Serum. Die Substanzen hatten also keinen Einfluss auf die Vitamin E-Konzentration im Serum.

Beim Vitamin C-Versuch ergab sich beim Vergleich der Vitamin C-Werte an Tag 28 zwischen den beiden Gruppen ein signifikanter Unterschied. Der Vitamin C-Wert der Vitamin C-Gruppe war um 30 Prozent höher als bei der Kontrollgruppe. Diese Erhöhung ist dadurch zu erklären, dass das dem Futter zugesetzte Vitamin C im Darm absorbiert wurde.

Im EGCG/LF-Versuch zeigten sich an Tag 28 keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Diese Substanzen hatten folglich keinen Einfluss auf die Vitamin C-Konzentration im Serum.

Stohrer et. al. (2001) bestimmten verschieden Enzymaktivitäten im Blut von Kälbern und Fohlen, um gesundheitliche Folgen des antioxidativen Staus zu beurteilen. Dabei wiesen sie bei beiden untersuchten Spezies erhöhte Aktivitäten des Leberenzym AST und des Muskelenzym CK fest. Dieser Anstieg wies auf eine Belastung durch Sauerstoffradikale hin.

In der vorliegenden Studie lag die AST in beiden Versuchsphasen stets innerhalb des von Kraft und Dürr (1999) angegebenen Referenzbereichs. Die CK allerdings lag zeitweise über dem Referenzbereich, der bei der Katze bis 130 IU/l beträgt. Es handelte sich insgesamt jedoch um geringe Abweichungen von bis zu etwa 200 IU/l, die durch die intramuskuläre Injektion zur Narkose erklärt werden können. Wäre diese Erhöhung krankhaft bedingt gewesen, wären die Abweichungen höher gewesen. Folglich konnte während der beiden Versuchsphasen bei beiden Gruppen keine erhöhte Belastung durch Sauerstoffradikale festgestellt werden.

### **3.4 Epigallocatechin Gallat**

Zu Versuchsbeginn und –ende wurde im EGCG/LF-Versuch die EGCG-Konzentration im Plasma gemessen, um zu überprüfen, ob EGCG absorbiert wird. Wie erwartet, wurden aber zu keinem Zeitpunkt bei keiner Gruppe nachweisbare Mengen im Plasma gefunden.



### **3.5 Untersuchungen zur bakteriellen Flora der Maulhöhle der Katze**

Bis heute mangelt es insgesamt in der Literatur noch an detaillierten Studien zur bakteriellen Flora der Maulhöhle der Katze. Dies betrifft zum einen die Normalflora sowie auch die Flora bei parodontalen Erkrankungen. Einigkeit besteht darüber, dass sich bei parodontalen Erkrankungen der Katze die Bakterienflora von aeroben, gram-positiven zu überwiegend anaeroben, gram-negativen Bakterien verschiebt (Listgarten, 1988; Loesche et al., 1985; Mallonee et al., 1988; Slots, 1976; Tanner et al., 1979). Zielsetzung der bakteriologischen Untersuchung dieser Studie war es daher, eine Verschiebung zu den aeroben, gram-positiven Bakterien (Normalflora) oder zu den anaeroben, gram-negativen Bakterien (Flora bei parodontalen Erkrankungen) festzustellen.

#### **3.5.1 In vivo-Versuch**

##### **3.5.1.1 Eignung der verwendeten Materialien zur Bakterienanzüchtung und Differenzierung**

Als Nährboden zur Anzüchtung der Bakterien wurde Blutagar gewählt. Blutagar ist ein Universalmedium, das einfach herzustellen ist und auf dem die meisten Bakterien sicher und schnell wachsen können. Allerdings gibt es auch Keime, die sich besser oder nur unter anderen Bedingungen entwickeln. Möglicherweise wurden solche Bakterien in der vorliegenden Studie nicht erfasst. Die Kultivierung auf Blutagar reichte jedoch aus, um tendenzielle Veränderungen in der qualitativen Zusammensetzung der Maulflora aufzuzeigen.

Es wurde eine rein qualitative Untersuchung der Maulflora der Katzen durchgeführt. Eine Quantitative Untersuchung war nicht möglich, da auf den Agarplatten, auf denen die Tupfer- und Paperpointproben aufgebracht worden waren, stets mehr als  $10^6$  Kolonien wuchsen.

Ursprünglich wurden die in dieser Studie zur Bakteriendifferenzierung verwendeten api-Systeme zur Differenzierung humanpathogener Bakterien entwickelt. Sie wurden aber nicht nur beim Mensch sondern auch schon bei verschiedenen Tierarten - darunter auch zur Differenzierung von Oralbakterien der Katze - erfolgreich eingesetzt (Mallonee et al., 1988; Mihaljevic und Klein, 1998). Auch in dieser Studie erwiesen sie sich als sicheres Testsystem zur Differenzierung der Bakterienspezies der Maulhöhle der Katze und wurden deshalb anderen biochemischen Testsystemen und der PCR-Analyse vorgezogen. PCR und andere biochemische Testsysteme wie Prolab ana II wurden nur vereinzelt zur Bestätigung herangezogen, wenn

sich durch das api-System ein unwahrscheinliches Resultat ergab. Insgesamt hat sich aber das api-System als geeignete Differenzierungsmethode für diese Studie bewährt.

### 3.5.1.2 Erhebung des Grundstatus – Wahl der Methode und Ergebnisse

Der bakterielle Grundstatus der Maulhöhle der 18 Katzen wurde in Zusammenarbeit mit Gorrisen (2004) im Rahmen der vorangegangenen Studie ermittelt. Die Zusammenarbeit gewährleistete, dass die Subkultivierung und Differenzierung der Bakterien unter gleich bleibenden Bedingungen stattfinden konnte.

Der Grundstatus wurde als Tag 0 der jeweiligen Versuche angenommen. Dies begründet sich darauf, dass alle Tiere vor dem Grundstatus und dem jeweiligen Tag 0 des Vitamin C- bzw. EGCG/LF-Versuchs das gleiche Futter bekamen. Die kultivierten Proben des jeweiligen Tag 0 und des Grundstatus wurden optisch und organoleptisch miteinander verglichen. Diese Methode stützte sich auf ein in der Humanmedizin angewandtes Verfahren, bei dem nur von der bekannten, normalen Mundflora abweichende Bakterien isoliert und differenziert werden (Kahlau, 2003). Bei diesem Vergleich ergaben sich in der vorliegenden Studie keine nennenswerten Unterschiede. Wären Abweichungen aufgefallen, so hätte eine Subkultivierung und Ausdifferenzierung der betreffenden Kolonien stattgefunden.

Bei der Erhebung des Grundstatus der 10 Katzen konnten zum Großteil die gleichen Bakterien differenziert werden, die von verschiedenen Autoren bereits beschrieben wurden (siehe Kapitel B 2.2 und 3.2.1.1):

*Bacteroides* spp., *Campylobacter* sp., *Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp., *Eubacterium lentum*, *Fusobacterium* spp., *Micorococcus* spp., *Neisseria* spp., *Pasteurella* spp., *Peptostreptococcus* sp., *Porphyromonas* spp., *Propionibacterium* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Wolinella* sp.

Es wurden aber auch Bakterienspezies in dieser Studie gefunden, die in der Literatur noch nicht als Bakterien der Maulhöhle der Katze geschildert wurden:

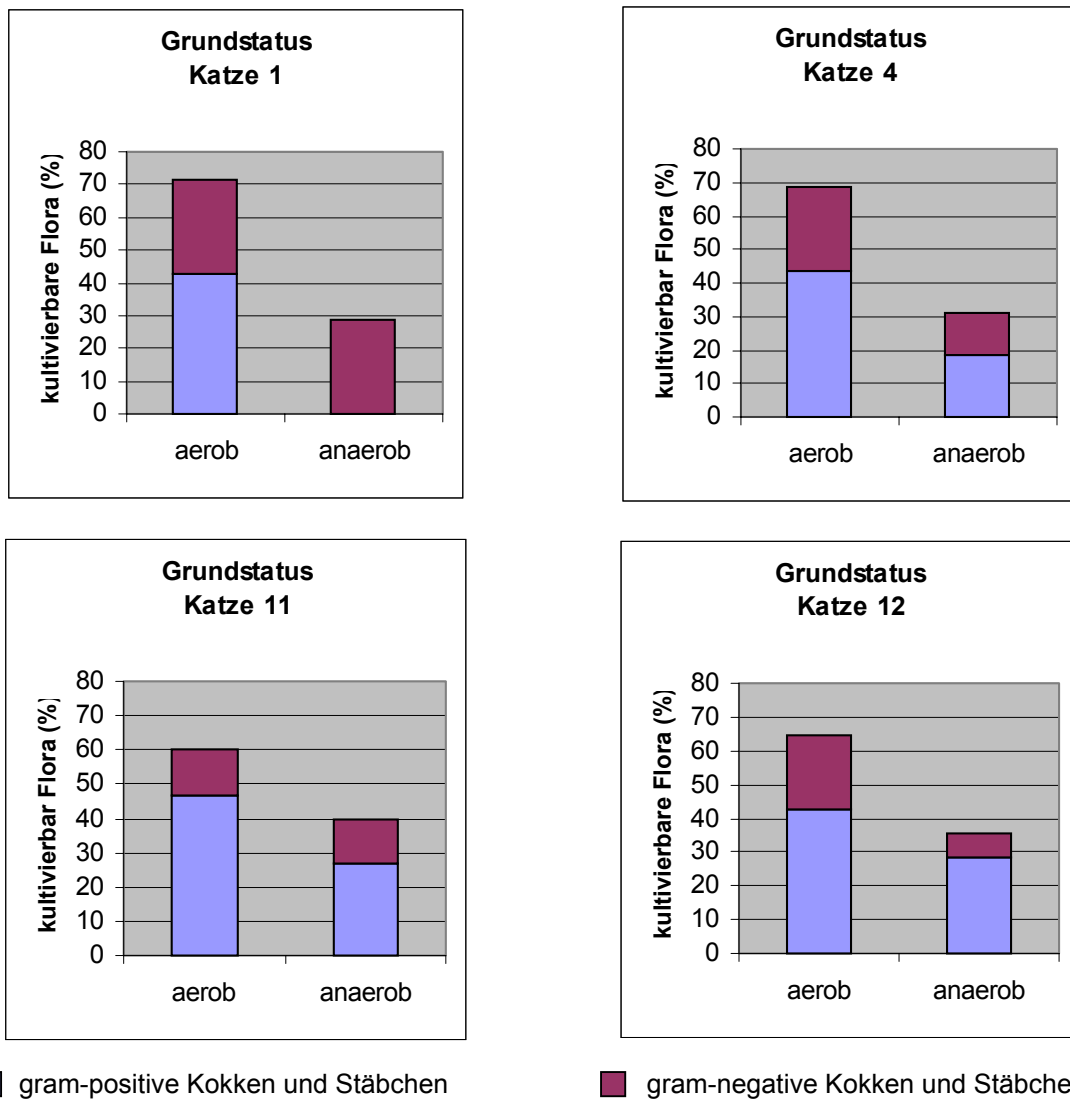
*Acinetobacter lwoffii*, *Aerococcus viridans*, *Arcanobacterium haemolytica*, *Arthrobacter* sp., *Bacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., *Brevundimonas vesicularis*, *Burkholderia cepacia*, *Cellulomonas* spp., *Gemella morbillorum*, *Haemophilus aphrophilus*, *Kocuria rosea*, *Lautropia* sp., *Listeria* spp., *Moraxella* sp., *Prevortella* spp, *Rothia dentocariosa*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Streptomyces* sp., *Weeksella virosa*

Zum Teil sind in der Literatur auch Keime beschrieben (siehe Kapitel B 2.2 und 3.2.1.1) die aus den Maulhöhlen der Katzen der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden konnten: *Aeromonas* spp., *Actinomyces* spp., Borrelien, *Capnocytophaga* spp., *Escherichia coli* und andere *Enterobacteriaceae*, *Treponema* spp.

Die Diskrepanzen zwischen der in der Literatur beschriebenen Maulhöhlenflora und der in dieser Studie nachgewiesenen Bakterien lassen sich durch die individuelle biologische Variation in der Zusammensetzung der Maulflora erklären. Ein weiterer Grund könnte, wie schon 1998 von Mihalevic und Klein angenommen, die unterschiedliche Kultivierungstechnik der verschiedenen Studien sein. Aber auch unterschiedlich gewählte Probenentnahmestellen könnten diese Diskrepanzen erklären (Isogai et al., 1989; Syed et al., 1980):

Beim Grundstatus fiel weiterhin auf, dass von fast allen Katzen – im Vorversuch sowie während des Vitamin C- und EGCG/LF-Versuchs - *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Moraxella* sp., *Eubacterium lentum*, *Fusobacterium* spp., *Propionibacterium* spp. und *Prevotella* spp. differenziert wurden. Am konstantesten zeigten sich *Pasteurella* spp. in der Plaqueflora der Katzen dieser Studie. Diese aeroben, gram-negativen Stäbchen, konnten bei jeder Katze zu jedem Untersuchungszeitpunkt isoliert werden.

Bei den vier ausgewählten Katzen, die an Tag 28 nochmals bakteriologisch untersucht wurden, wurden bei allen Tieren überwiegend mit 60 bis 71 Prozent aerobe Spezies isoliert (Abbildung 36). Unter diesen dominierten vor allem die grampositiven Bakterienspezies mit jeweils rund 40 Prozent. Die Flora entsprach damit insgesamt bei allen vier Tieren in etwa der Normalflora bei gesundem Parodont (siehe Kapitel B 2.2).

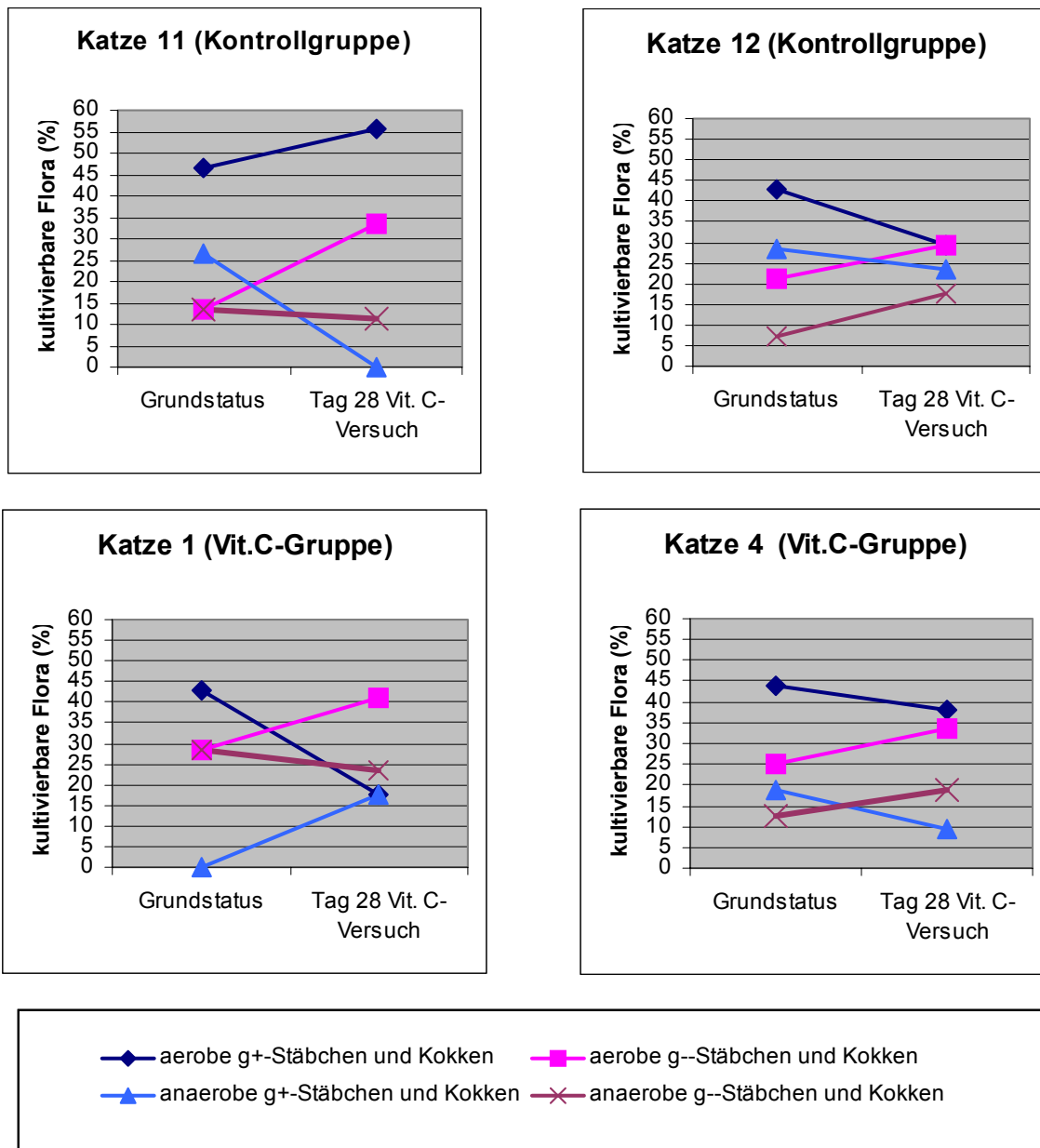


**Abbildung 36: Aerobe und anaerobe Verteilung innerhalb der differenzierten Bakterienspezies mit Aufteilung in gram-positive und gram-negative Spezies – rein qualitative Beurteilung der Zusammensetzung der Gesamtfloora**

### 3.5.1.3 Wirkung von Vitamin C auf die Plaqueflora

Beide Katzen der Kontrollgruppe zeigten an Tag 28 des Vitamin C-Versuchs mehr gram-negative Bakterienspezies als zum Grundstatus festgestellt wurden. Bei Katze 11 verringerten sich innerhalb dieser die anaeroben, gram-negativen Spezies um 2 Prozent, während diese sich bei Katze 12 um 10 Prozent erhöhten. Insgesamt zeigten sich aber bei beiden Katzen überwiegend aerobe Spezies mit insgesamt 89 Prozent bei Katze 11 und 60 Prozent bei Katze

12. Bei Katze 11 wurden an Tag 28 ca. ein Viertel mehr aerobe, gram-positiven Kokken differenziert als zum Grundstatus, bei Katze 12 ca. ein Drittel weniger.



**Abbildung 37: Prozentualer Anteil der Bakterienspezies an der Gesamtflora vom Grundstatus im Vergleich zu Tag 28 des Vitamin C-Versuchs bei den 4 zur bakteriologischen Untersuchung ausgewählten Katzen**

Die Fütterung von Vitamin C bewirkte im Vergleich zum Grundstatus an Tag 28 bei Katze 1 eine geringgradige Abnahme des Anteils der anaeroben, gram-negativen Bakterienspezies um 5 Prozent an der Gesamtflora. Allerdings nahm auch der Anteil der aeroben, gram-positiven

Kokken an der Gesamtflora ab und zwar um 25 Prozent. Katze 4 zeigte in etwa die gleichen Änderungen in der Zusammensetzung der aeroben Bakterienspezies wie Katze 1 jedoch nicht so ausgeprägt. Der Anteil der anaeroben, gram-negativen Bakterienspezies nahm geringgradig um etwa 5 Prozent zu.

Abbildung 37 stellt die prozentuale Verteilung der Bakterienspezies vom Grundstatus im Vergleich zu Tag 28 des Vitamin C-Versuchs bei den vier zur bakteriologischen Untersuchung herangezogenen Katzen dar. Bei allen Katzen zeigten sich Änderungen in der Zusammensetzung der bakteriellen Flora der Maulhöhle. Allerdings waren keine ausreichend deutlichen Verschiebungen in Richtung auf überwiegend aerobe, grampositive bzw. anaerobe, gram-negative Bakterienspezies zu erkennen. Die Verteilung der Bakterienspezies lässt aber in jedem Fall den Rückschluss zu, dass diese Verteilung bei allen vier Katzen weiterhin der Normalflora bei gesundem Parodont entsprach.

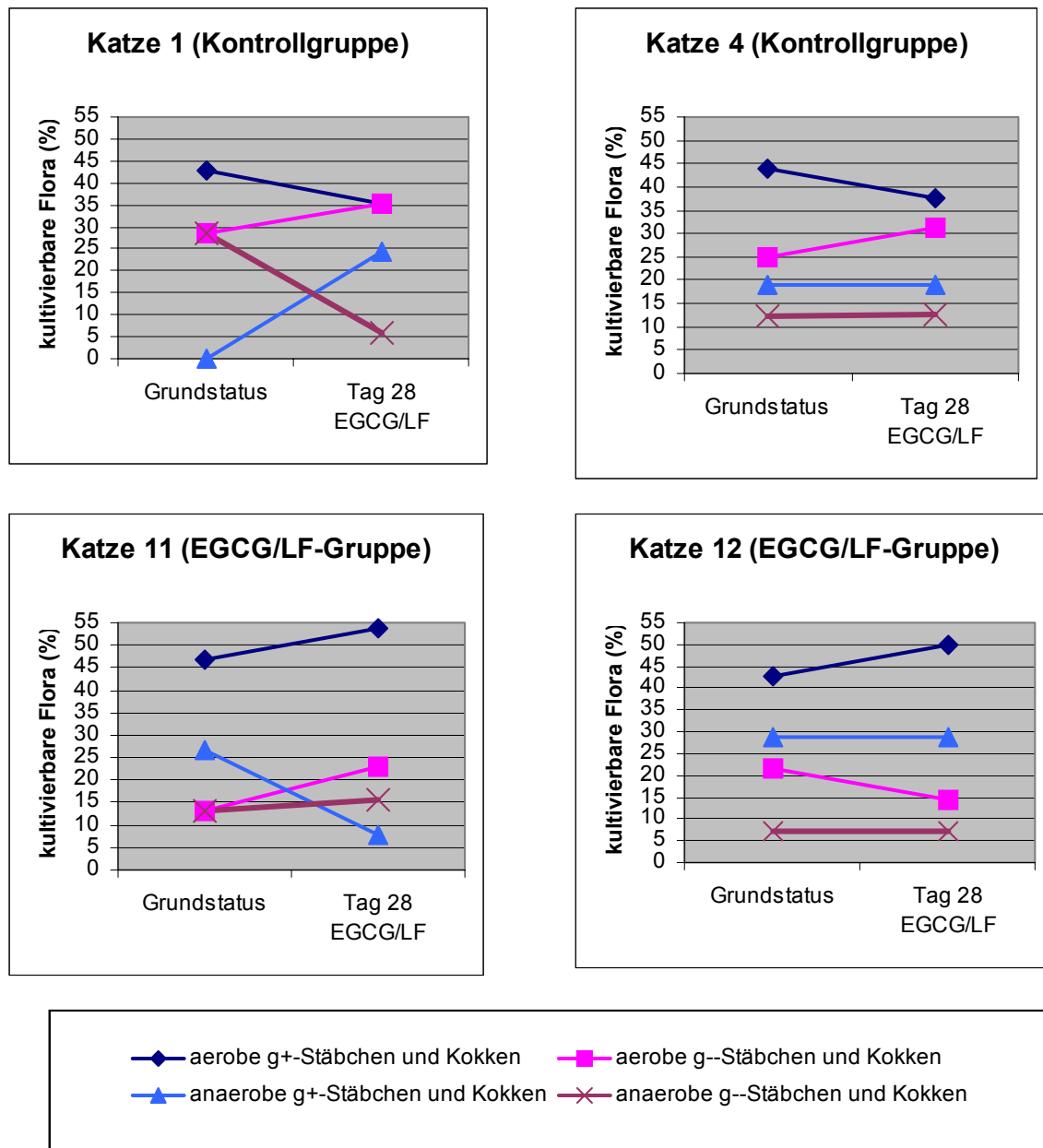
#### **3.5.1.4 Wirkung von EGCG in Kombination mit Lactoferrin auf die Plaqueflora**

Abbildung 38 stellt den prozentualen Anteil der Bakterienspezies an der Gesamtflora vom Grundstatus zu Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs bei den vier zur bakteriologischen Untersuchung herangezogenen Katzen dar.

Bei der Kontrollgruppe innerhalb des EGCG/LF-Versuchs ergaben sich ähnliche Veränderungen wie im Vitamin C-Versuch.

Bei den Tieren der Kontrollgruppe fiel der Anteil der aeroben, gram-positiven Bakterienspezies an der Gesamtflora um 6 bis 7 Prozent. Der Anteil der anaeroben, gram-negativen Spezies blieb bei Katze 4 konstant. Bei Katze 1 fiel er um mehr als 20 Prozent.

Katze 11 und 12 (EGCG/LF-Gruppe) zeigten beide zu Tag 28 keine wesentliche Veränderung bei den anaeroben, gram-negativen Bakterienspezies. Beide Tiere wiesen allerdings einen geringgradigen Anstieg des Anteils der aeroben, gram-positiven Bakterienspezies an der Gesamtflora von ca. 7 Prozent auf. Bei Katze 11 bildeten die aeroben Bakterienspezies damit insgesamt 62 Prozent und bei Katze 12 sogar 77 Prozent der isolierten Bakterienspezies. Von diesen Bakterienspezies waren der Großteil gram-positive Kokken, bei Katze 11 waren 71 Prozent der aeroben, gram-positiven Bakterienspezies Kokken und bei Katze 12 waren es wie allerdings auch schon zum Grundstatus 100 Prozent



**Abbildung 38: Prozentualer Anteil der Bakterienspezies an der Gesamtflorea vom Grundstatus im Vergleich zu Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs bei den 4 zur bakteriologischen Untersuchung ausgewählten Katzen**

Diese aeroben, gram-positiven Bakterien - wie z.B. *Streptococcus* spp. - können sich an die Pellikel auf der Zahnoberfläche heften. Die initial an der Schmelzoberfläche über die Pellikel anhaftenden Bakterien produzieren Polysaccharide, die es anderen Bakterien ermöglichen, sich ebenfalls anzulagern (Hennet, 1995b) (Hennet, 1995b; Whittaker et al., 1996). Es wäre möglich, dass EGCG in Kombination mit Lactoferrin in vivo insgesamt zu einer Reduktion der Bakterien führte und dass sich in den 24 Stunden vor der Narkose, in denen von den Tie-

ren EGCG und Lactoferrin nicht mehr aufgenommen wurde, die aeroben gram-positiven Kokken als erste wieder anheften und vermehrt bilden konnten. Allerdings sind die Verschiebungen innerhalb der Flora in Richtung aerobe, gram-positive Bakterienspezies nicht deutlich genug, um diese Annahme aussagekräftig zu bestätigen.

Insgesamt zeigten aber – wie auch schon zum Grundstatus - alle vier Katzen des EGCG/LF-Versuchs eine Flora, wie sie bei einem gesunden Parodont zu erwarten war, mit überwiegend aeroben, gram-positiven Bakterienspezies.

### **3.5.1.5 Zusammenfassende Beurteilung der in vivo-Ergebnisse aus den bakteriologischen Untersuchungen**

Letztendlich können keinen definitiven Aussagen über eine Veränderung oder ein Gleichbleiben der Plaqueflora in vivo durch die verwendeten Wirkstoffe in der vorliegenden Studie getroffen werden. Insgesamt mangelt es in der Literatur bis heute noch an detaillierten Studien zur bakteriellen Flora der Maulhöhle der Katze, wodurch die Beurteilung der Plaqueflora der Katzen dieser Studie nur bedingt möglich war.

In der Humanmedizin wird zur Beurteilung der Mundflora z.B. nach bestimmten Indikatorkeimen gesucht, die vor allem bei parodontalen Erkrankungen vorkommen (Hellwig, 1999). Für die Katze liegen vereinzelt Studien zu solchen Indikatorkeimen vor (Harvey, 1991; Maloney et al., 1988; Mihaljevic und Klein, 1998; Norris und Love, 1999). Allerdings herrscht zwischen diesen verschiedenen Studien noch zu große Uneinigkeit über die Pathogenität verschiedener Bakterien (siehe auch B-Literaturübersicht 3.2.1.1). Um genauere Aussagen über möglicherweise pathogene Bakterien bei parodontalen Erkrankungen der Katze machen zu können, müsste zunächst Grundlagenforschung betrieben werden. Dazu hätte die Maulflora von mehreren hundert gesunden und parodontalerkrankten Katzen untersucht werden müssen. Dies hätte allerdings den Rahmen der vorliegenden Studie gesprengt, zumal die Bakteriologie nur ein Teilgebiet dieser Arbeit darstellte.



### **3.5.2 In vitro-Versuch**

Die im in vitro-Versuch verwendeten Nährböden wurden auf Grund der antibakteriellen Aktivität des jeweiligen Wirkstoffs und auf Grund der Wachstumsansprüche der Bakterien der Maulflora der Katze ausgewählt.

#### **3.5.2.1 Hemmwirkung durch Vitamin C**

Für die in vitro-Überprüfung des antibakteriellen Effekts der pro Ration gewählten Dosierung von Vitamin C wurde Blutagar als Nährboden gewählt. Vitamin C wirkt antibakteriell, indem es die Zelloberflächen von Bakterien verändert (Rawal, 1978). Außerdem ist Vitamin C ein Eisenchelator, der den Bakterien das zum Wachstum benötigte Eisen entziehen kann (Goldschmidt, 1991; Halberg et al., 1989). Auf dem Universalmedium Blutagar, waren die Bakterien der Maulhöhle der Katze bereits angezüchtet worden. Daher war sichergestellt, dass auf diesem Agar ein ungestörtes Wachstum dieser Keime stattfand. Den Bakterien stand auf dem gewählten Agar sehr viel Eisen zur Verfügung, so dass Vitamin C möglicherweise nicht über die Eisenbindung, sondern über die Veränderung der Bakterienzellwand antibakteriell wirkte. Der antibakterielle Effekt der gewählten Dosis Vitamin C konnte jedoch auf diesem Nährboden sehr gut beurteilt werden.

Bei der Dosis an Vitamin C, die in einer Futterration enthalten war (105,5 mg), entstand auf dem aeroben und anaeroben Nährboden jeweils ein deutlicher Hemmhof. Auch bei einem Zehntel dieser Dosis konnte noch ein hemmender Effekt auf das Wachstum der Bakterienart auf dem aeroben Agar nachgewiesen werden. Niedrigere Dosierungen zeigten keine hemmende Wirkung mehr auf das Bakterienwachstum.

#### **3.5.2.2 Hemmwirkung durch EGCG in Kombination mit Lactoferrin**

Für den Versuch mit EGCG in Kombination mit Lactoferrin wurde neben Blutagar zusätzlich Müller-Hinton-Agar verwendet. EGCG wirkt durch Veränderung der Oberfläche von Bakterien und durch den Einfluss auf bakterielle Enzyme antibakteriell. Der antibakterielle Effekt von Lactoferrin beruht allein auf der Fähigkeit Eisen zu binden. Lactoferrin entzieht so den Bakterien das zum Wachstum benötigte Eisen. Da beim Blutagar den Bakterien sehr viel Eisen zur Verfügung steht, kann Lactoferrin auf diesem Agar seine antibakterielle Wirkung möglicherweise nicht entfalten. Deshalb wurde wie in der Studie von Gorrissen (2004) die hemmende Wirkung der gewählten Dosis auf zwei verschiedenen Nährböden getestet. Davon

wies der Müller-Hinton-Agar einen deutlich geringen Eisengehalt auf. Auch wenn auf diesem Agar die isolierten Bakterien nur wenige Kolonien bildeten, konnten die entstandenen Hemmhöfe trotzdem gut erkannt werden. Auf dem Universalmedium Blutagar zeigte sich im Gegensatz zum Müller-Hinton-Agar ein vielfältiges Wachstum der Bakterien. Die Hemmhöfe konnten auf diesem Nährboden ebenfalls deutlich erkannt werden.

Für ECGC und LF wurde in der Studie von Gorrissen (2004) bereits jeweils eine hemmende Wirkung auf das Wachstum der Plaquebakterien der Katze *in vitro* nachgewiesen. Auf dem Müller-Hinton-Agar entstand in der vorliegenden Studie bei der Dosis an EGCG in Kombination mit Lactoferrin, die in einer Futterration enthalten war (135/135 mg), aerob und anaerob ein größerer Hemmhof als auf dem entsprechenden Blutagar. Dieses Ergebnis entsprach der bereits erwähnten Annahme, dass Lactoferrin über seine Eisenbindungsfähigkeit einen hemmenden Effekt auf das Wachstum der Bakterien ausübt und dieser Effekt auf dem Blutagar nicht nachzuweisen ist. Umso deutlicher konnte die hemmende Wirkung aber auf dem Müller-Hinton-Agar gesehen werden. Die Hemmhöfe waren auf diesen bei gleicher Konzentration an Wirkstoff stets größer als auf dem Blutagar.

Auf beiden Nährböden, Blutagar und Müller-Hinton-Agar, zeigte sich noch bei einem Zehntel der ursprünglichen Dosis an EGCG und LF auf den aeroben und anaeroben Platten ein hemmender Effekt auf die Bakterien. Bei einem Hundertstel der ursprünglichen Dosis zeigte nur noch der jeweilige aerobe Agar einen kleinen Hemmhof.



**Abbildung 39: Hemmhof sowie Verfärbung und Hämolyse des Blutagars durch EGCG in Kombination mit Lactoferrin (135/135 mg)**

Wie von GORRISEN 2004 beschrieben wurde, kam es auch in dieser Studie durch die Substanz EGCG beim Müller-Hinton-Agar zur Hämolyse und Verfärbung des jeweiligen Nährbodens. Diese Veränderungen entstanden um das Loche in der Mitte des Agars, das mit der entsprechenden Menge EGCG und Lactoferrin gefüllt war (Abbildung 39).

### **3.5.2.3 Zusammenfassende Beurteilung der in vitro-Ergebnisse**

In beiden in vitro-Versuchen zeigte sich durch die jeweilige gewählte Dosis der Wirkstoffe pro Futterration ein hemmender Effekt auf die Bakterien der Maulhöhle der Katze.

## **F Zusammenfassung**

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals der Einfluss von Vitamin C (in Form von Natrium Ascorbyl Monophosphat) und Epigallocatechin Gallat (EGCG) in Kombination mit Lactoferrin (LF) auf die Zahngesundheit der Katze untersucht. Dazu erhielten in einem verblindeten Fütterungsversuch jeweils 9 Katzen in der ersten Versuchsphase von 4 Wochen ein mit Vitamin C (50 mg/kg Körpermasse) bzw. in einer zweiten vierwöchigen Versuchsphase ein mit EGCG in Kombination mit Lactoferrin (je 6,6 mg/kg Körpermasse) versetztes Futter. Zum Vergleich wurde jeweils 9 Katzen parallel ein Kontrollfutter verabreicht. Um die Wirkung des Futters auf die Zahngesundheit beurteilen zu können, wurde die Gingiva, die Tiefe des gingivalen Sulcus, die Plaque- und Zahnsteinbildung sowie Mobilität und Furkation an Zähnen und Parodont mittels Indizes beurteilt. Weiter wurde die Halitosis gemessen und exemplarisch die bakterielle Flora der Maulhöhle von je 2 Katzen aus Kontroll- und Wirkstoffgruppe beurteilt. Zusätzlich wurde die antibakterielle Wirkung der Substanzen in vitro getestet und alle 4 Wochen der Einfluss von Vitamin C und EGCG in Kombination mit Lactoferrin auf den antioxidativen Status der Tiere überprüft.

Durch die Fütterung von Vitamin C konnte im Durchschnitt keine Beeinflussung des Geruchs der Atemluft, des Gingivitisindex sowie des Mobilitäts- und Furkationsindex festgestellt werden. Sondierungstiefe und Zahnsteinindex verbesserten sich nur geringgradig. Für den Plaqueindex ergab sich allerdings durch die Fütterung von Vitamin C eine signifikante Verbesserung im Vergleich zur Kontrollgruppe, die sich in der deutlich geringeren Plaqueakkumulation bei der Vitamin C-Gruppe zeigte.

EGCG in Kombination mit Lactoferrin bewirkte keine Veränderung des Geruchs der Atemluft sowie des Furkations- und Mobilitätsindex. Plaque- und Zahnsteinindex waren nur geringgradig niedriger im Vergleich zur Kontrollgruppe. Signifikante Unterschiede ergaben sich beim Gingivitisindex und der Sondierungstiefe. Der Gingivitisindex verringerte sich innerhalb von 4 Wochen deutlich bei der EGCG/LF-Gruppe und die Sondierungstiefe war im Vergleich zur Kontrollgruppe am Ende der Versuchsphase des EGCG/LF-Versuchs bei der Wirkstoffgruppe deutlich niedriger.

In der Zusammensetzung der oralen Bakterienflora ergaben sich innerhalb der 4 Wochen bei keiner der Katzen wesentliche Veränderungen. Die in vitro-Versuche bestätigten bei allen Substanzen deutlich ihre antibakterielle Aktivität. Vitamin C sowie EGCG in Kombination mit Lactoferrin beeinflussten den antioxidativen Status nicht.

In der vorliegenden Studie wurde somit gezeigt, dass Vitamin C und EGCG in Kombination mit Lactoferrin einen positiven Effekt auf die Zahngesundheit der Katze ausübten. Dieser Effekt machte sich bei Vitamin C hauptsächlich durch die deutlich verminderte Plaqueakkumulation und bei EGCG in Kombination mit Lactoferrin vor allem durch den verbesserten Zustand der Gingiva bemerkbar.

## G Summary

### **Studies on the Influence of Vitamin C and Epigallocatechin Gallate in Combination with Lactoferrin on the Oral Health of Cats**

Katrin Elsbett

The following study investigated for the very first time, the influence of vitamin C (sodium ascorbyl monophosphate) and epigallocatechin gallate (EGCG) in combination with lactoferrin (LF) on oral and dental health of cats. For this purpose a series of random and blinded feeding experiments was carried out with 9 cats per group. They were fed a diet supplemented with vitamin C (50mg/kg body mass) during the first experimental phase of 4 weeks, followed by a second experimental period of 4 weeks during which they were given a diet supplemented with EGCG combined with lactoferrin (each 6,6 mg/kg body mass). For purposes of comparison a control group also consisting of 9 cats, was fed on a parallel basis, with diet containing no supplements. In order, to assess the effects of the diet on oral and dental health of the cats, evaluations were made on occurrence and indication of the state of the gingiva, the depth and recession of the gingival sulcus, the formation of plaque and calculus, as well as mobility and furcation of the teeth and the paradont. In addition halitosis levels were gauged and an exemplary evaluation of the bacterial flora of the mouth cavities of 2 cats from each group was made. Also, the antibacterial effects of the substances were tested in vitro. The influence of vitamin C and EGCG in combination with lactoferrin on the antioxidative state of the animals was examined once every 4 weeks.

Supplementing the diet with vitamin C did not influence the smell of the air exhaled by the animals or the gingivitis index or the mobility and furcation indexes. Probing depths and calculus indexes improved only marginally. However, in the case of plaque index, a significant improvement could be ascertained by the supplementation of vitamin C as compared to the control group, manifested by a distinctly lower accumulation.

The supplementation of EGCG in combination with lactoferrin neither led to an alteration in the smell of the air exhaled by the animals, nor to a change of the furcation and mobility indexes. Plaque and calculus indexes were only slightly lower than in the control group. Significant changes, however, could be ascertained with the gingivitis index and the probing depths. The gingivitis index decreased significantly during the 4 week phase with the

EGCG/LF-group and in comparison to the control group the probing depth of the supplemented diet group was significantly lower at the end of the experimental phase of the EGCG/LF-test.

The average composition of the bacterial flora in the mouth cavities of the cats did neither change in the supplemented nor in the control group to a larger extent during the 4 week period. Clear antibacterial activity of all substances supplemented was confirmed by the in vitro tests. Vitamin C as well as EGCG in combination with lactoferrin did not influence antioxidative status.

It thus could be proven that vitamin C and EGCG in combination with lactoferrin perform a positive effect on oral and dental health of cats. The effect, caused by implementing vitamin C, became mainly visible by the significantly decreased accumulation of plaque, while EGCG in combination with lactoferrin improved clearly the condition of the gingiva.

## H Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau des Zahnes und des Zahnhalteapparates (Bienick und Bienick, 1993) .....	4
Abbildung 2: Topographie in der Maulhöhle (Holmstrom, 2000).....	9
Abbildung 3: Zahnidentifizierung nach dem anatomischen System (außen) und dem Triadan System (innen) (Kesel, 2000).....	9
Abbildung 5: Schema der Plaquebildung (Weber, 2003) .....	17
Abbildung 6: Entstehung von Gingivitis und Parodontitis: normale Gingiva (a), Gingivitis (b) Parodontitis (c) (Bienick und Bienick, 1993).....	23
Abbildung 7: Pathogenese der Bildung von Zahnfleischtaschen (Kraft, 2000).....	25
Abbildung 8: Ascorbinsäure als Redoxsystem: Ascorbinsäure (reduzierte Form), Semidehydroascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure (oxidierte Form) (Carr, 1999) .....	35
Abbildung 9: Strukturformel von (-)-Epigallocatechin Gallat (EGCG) (Sakanaka et al., 1996).....	40
Abbildung 11: Tupferprobenentnahme vom Prämolaren 3 auf der linken Kieferseite.....	57
Abbildung 12: Platzierung der Papierspitze im gingivalen Sulcus exemplarisch dargestellt am Caninus auf der linken Kieferseite und Kennzeichnung der Zähne die für die Probenentnahme aus dem gingivalen Sulcus herangezogen wurden .....	57
Abbildung 13: Zur Bewertung der Maulhöhlenparameter herangezogene Zähne exemplarisch an der linken Kieferseite dargestellt (C = Caninus, P3 = Prämolare 3, P4 = Prämolare 4, M1 = Molare 1).....	58
Abbildung 14: Aufteilung der Gingiva an der buccalen Seite in ein mesiales, buccales und distales Drittel, exemplarisch dargestellt am P4 des linken Oberkiefers.....	60
Abbildung 15: Zugrichtung der Parodontalsonde durch den gingivalen Sulcus zur Beurteilung der Blutungsneigung .....	60
Abbildung 16: Anfärbung der Plaque auf der Zahnoberfläche nach Anwendung von Mira-2-Ton-Lösung .....	62
Abbildung 17: Unterteilung der buccalen Zahnfläche in eine gingivale und eine okklusale Hälfte, exemplarisch dargestellt am Caninus des linken Oberkiefers.....	62
Abbildung 18: Zur Beurteilung und Subkultivierung herangezogene Kulturplatten einer Katze.....	77
Abbildung 19: Prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram- positiven (g+) und gram-negativen (g-) Bakterienspezies aus der Maulhöhle von 10 Katzen im Vorversuch .....	96
Abbildung 20: Grundstatus der Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 11 (Kontrollgruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen .....	97
Abbildung 21: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 11 (Kontrollgruppe) an Tag 28 des Vitamin C- Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram- positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen.....	98
Abbildung 22: Grundstatus der Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 12 (Kontrollgruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen.....	100



---

<b>Abbildung 23: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 12 (Kontrollgruppe) an Tag 28 des Vitamin C-Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen.....</b>	<b>101</b>
<b>Abbildung 24: Grundstatus der Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 1 (Vitamin C-Gruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen .....</b>	<b>102</b>
<b>Abbildung 25: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 1 (Vitamin C-Gruppe) an Tag 28 des Vitamin C-Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen.....</b>	<b>104</b>
<b>Abbildung 26: Grundstatus der Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 4 (Vitamin C-Gruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen .....</b>	<b>105</b>
<b>Abbildung 27: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 4 (Vitamin C-Gruppe) an Tag 28: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen.....</b>	<b>106</b>
<b>Abbildung 28: Grundstatus der Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 1 (Vitamin C-Gruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen .....</b>	<b>122</b>
<b>Abbildung 29: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 1 (Kontrollgruppe) an Tag 28 des EGCG/LF - Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen.....</b>	<b>123</b>
<b>Abbildung 30: Grundstatus der Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 4 (Kontrollgruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen.....</b>	<b>124</b>
<b>Abbildung 31: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 4 (Kontrollgruppe) an Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen.....</b>	<b>125</b>
<b>Abbildung 32: Grundstatus der Bakterienflora der Katze 11 (EGCG/LF-Gruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen .....</b>	<b>127</b>
<b>Abbildung 33: Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 11 (EGCG/LF-Gruppe) an Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen.....</b>	<b>128</b>
<b>Abbildung 34: Grundstatus der Bakterienflora der Katze 12 (EGCG/LF-Gruppe): prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen.....</b>	<b>129</b>
<b>Abbildung 35: : Bakterienflora der Maulhöhle der Katze 12 (EGCG/LF-Gruppe) an Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs: prozentuale Verteilung (rein qualitative Bestimmung) der aeroben und anaeroben, gram-positiven (g+) und gram-negativen (g-), Kokken und Stäbchen.....</b>	<b>131</b>
<b>Abbildung 36: Vergleich der Plaquebildung nach Aufnahme von Kontroll- und Vitamin C-Futter an Tag 28 des Vitamin C-Versuchs.....</b>	<b>142</b>

---

<b>Abbildung 37: Aerobe und anaerobe Verteilung innerhalb der differenzierten Bakterienspezies mit Aufteilung in gram-positive und gram-negative Spezies – rein qualitative Beurteilung der Zusammensetzung der Gesamflora .....</b>	<b>152</b>
<b>Abbildung 38: Prozentualer Anteil der Bakterienspezies an der Gesamflora vom Grundstatus im Vergleich zu Tag 28 des Vitamin C-Versuchs bei den 4 zur bakteriologischen Untersuchung ausgewählten Katzen .....</b>	<b>153</b>
<b>Abbildung 39: Prozentualer Anteil der Bakterienspezies an der Gesamflora vom Grundstatus im Vergleich zu Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs bei den 4 zur bakteriologischen Untersuchung ausgewählten Katzen .....</b>	<b>155</b>
<b>Abbildung 40: Hemmhof sowie Verfärbung und Hämolyse des Blutagars durch EGCG in Kombination mit Lactoferrin (135/135 mg).....</b>	<b>158</b>

# I Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1: Darstellung von Geschlecht, Alter und Gewicht der Versuchskatzen zu Beginn der Fütterungsstudie .....</b>	<b>46</b>
<b>Tabelle 2: Energiebedarf der Versuchstiere und Futtermenge pro Tag bzw. pro Mahlzeit zum Versuchsbeginn.....</b>	<b>51</b>
<b>Tabelle 3: Der Reihenfolge nach durchgeführte Behandlungen und erhobene Parameter unter Narkose</b>	<b>55</b>
<b>Tabelle 4: Skala zur Beurteilung der Atemluft .....</b>	<b>59</b>
<b>Tabelle 5: Bewertungsschema für den Gingivitisindex auf einer Skala von 0 bis 3 .....</b>	<b>61</b>
<b>Tabelle 6: Skalen für die Bewertung der Plaque.....</b>	<b>63</b>
<b>Tabelle 7: Skala zur Beurteilung des Zahnsteinindex.....</b>	<b>64</b>
<b>Tabelle 8: Beurteilungsschema zum Furkationsindex .....</b>	<b>65</b>
<b>Tabelle 9: Bewertungsschema für den Mobilitätsindex.....</b>	<b>66</b>
<b>Tabelle 10: Einteilung einiger Reinkulturen in Keimgruppen nach Gram-Färbung und Wachstum auf Blutagar.....</b>	<b>78</b>
<b>Tabelle 11: Schema zur Auswahl der Api-System für die biochemische Differenzierung der Bakterien ...</b>	<b>79</b>
<b>Tabelle 12: Durchschnittliches Gewicht in kg der Katzen der Kontroll- und der Vitamin-C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28.....</b>	<b>83</b>
<b>Tabelle 13: Vergleich der mittels Halimeter durchgeführten durchschnittlichen Halitosismessung (Schwefelkomponenten in ppm) der Kontroll- und der Vitamin C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28, sowie Vergleich der Messungen an Tag 0 und Tag 28 innerhalb der Gruppen .....</b>	<b>84</b>
<b>Tabelle 14: Vergleich der organoleptischen Halitosismessung der Kontroll- und der Vitamin-C-Gruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppe an Tag 0 und Tag 28, bewertet auf einer Skala von 0 (keine Halitosis) bis 3 (starke Halitosis).....</b>	<b>84</b>
<b>Tabelle 15: Vergleich des durchschnittlichen Gingivitsindex (GI) der einzelnen Zähne und des Gesamtgingivitisindex der Kontroll- und der Vitamin-C-Gruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppe an Tag 0 und Tag 28 bewertet auf einer Skala von 0 (keine Gingivitis) bis 3 (schwere Gingivitis).....</b>	<b>85</b>
<b>Tabelle 16: Vergleich der durchschnittlichen Sondierungstiefe (PD) in mm der einzelnen Zähne und der durchschnittlichen Gesamtsondierungstiefe der Kontroll- und der Vitamin-C-Gruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppe an Tag 0 und Tag 28 .....</b>	<b>87</b>
<b>Tabelle 17: Vergleich des durchschnittlichen Plaqueindex (PI) der einzelnen Zähne und des durchschnittlichen Gesamtplaqueindex der Kontroll- und der Vitamin-C-Gruppe an Tag 28 angegeben als Produkt der Bedeckung der Zahnoberfläche (0 = keine Plaque bis 3 = über <math>\frac{3}{4}</math> der Zahnoberfläche mit Plaque bedeckt) und Dicke des Belags (0 = keine Plaque bis 3 = dicker Belag)</b>	<b>88</b>
<b>Tabelle 18: Vergleich des durchschnittlichen Zahnsteinindex (CI) der einzelnen Zähne und des durchschnittlichen Gesamtzahnsteinindex der Kontroll- und der Vitamin-C-Gruppe an Tag 28 bewertet auf einer Skala von 0 (kein Zahnstein) bis 3 (über <math>\frac{3}{4}</math> der Zahnoberfläche mit Zahnstein bedeckt) .....</b>	<b>89</b>

<b>Tabelle 19: Weißes Blutbild mit Leukozyten (WBC), neutrophilen Granulozyten (Neu), Lymphozyten (Lym), Monozyten (Mono), eosinophilen Granulozyten (Eos) und basophilen Granulozyten (Baso) der Kontrollgruppe und der Vitamin C-Gruppe während des Vitamin C-Versuchs an Tag 0 und Tag 28, jeweils angegeben in <math>10^9/l</math> .....</b>	<b>91</b>
<b>Tabelle 20: Rotes Blutbild mit Erythrozyten (RBC in <math>10^{12}/l</math>), Hämoglobin (Hgb in mmol/l), Hämatokrit (Hct in l/l), Mittleres Erythrozytenvolumen (MCV in fl), Mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten (MCH in fmol), Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC in mmol/l) der Kontroll- und Vitamin C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des Vitamin C-Versuchs .....</b>	<b>91</b>
<b>Tabelle 21: Vergleich der Leberwerte mit Aspartat-Amino-Transferase (AST in U/l), Alanin-Amino-Transferase (ALT in U/l), Alkalische Phosphatase (AP in U/l), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH in U/l) und der Nierenwerte mit Harnstoff (HAST in mmol/l) und Kreatinin (CREA in <math>\mu\text{mol}/l</math>) sowie Fructosamin (FRUC in <math>\mu\text{mol}/l</math>) der Kontroll- und Vitamin C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des Vitamin C-Versuchs .....</b>	<b>92</b>
<b>Tabelle 22: Antioxidativer Status der Kontroll- und Vitamin-C-Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des Vitamin C-Versuchs: Vergleich der durchschnittlichen antioxidativen Kapazität in Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) in mmol/l, Vitamin E – in <math>\mu\text{g}/\text{ml}</math>, Vitamin C- in <math>\mu\text{g}/\text{ml}</math>, Kreatinkinase-(CK) in IU/l und Aspartat-Amino-Transferase-(AST) Konzentration in IU/l .....</b>	<b>93</b>
<b>Tabelle 23: Gram-positive (g+) und gram-negative (g-) Bakterien, die bei insgesamt 10 Katzen aus der Kontroll- und der Wirkstoffgruppe im Vorversuch aus der Maulhöhle isoliert wurden .....</b>	<b>95</b>
<b>Tabelle 24: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 11 (Kontrollgruppe); (sp. = Spezies).....</b>	<b>97</b>
<b>Tabelle 25: Bakterielle Maulflora der Katze 11 (Kontrollgruppe) an Tag 28; (sp = Spezies).....</b>	<b>98</b>
<b>Tabelle 26: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 12 (Kontrollgruppe); (sp. = Spezies).....</b>	<b>99</b>
<b>Tabelle 27: Bakterielle Maulflora der Katze 12 (Kontrollgruppe) an Tag 28; (sp = Spezies).....</b>	<b>100</b>
<b>Tabelle 28: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 1 (Vitamin C-Gruppe); (sp. = Spezies) .</b>	<b>102</b>
<b>Tabelle 29: Bakterielle Maulflora der Katze 1 (Vitamin C-Gruppe) an Tag 28; (sp = Spezies) .....</b>	<b>103</b>
<b>Tabelle 30: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 4 (Vitamin C-Gruppe); (sp. = Spezies) .</b>	<b>104</b>
<b>Tabelle 31: Bakterielle Maulflora der Katze 4 (Vitamin C-Gruppe) an Tag 28; (sp. = Spezies) .....</b>	<b>106</b>
<b>Tabelle 32: In vitro entstandene Hemmhöfe in cm auf mit Bakteriensuspension bestrichenem Blutagar durch 105, 5 mg, 10,55 mg, 1,055 mg und 0 mg (Kontrolle) Vitamin C nach aerober (24 h) und anaerober (48 h) Inkubation bei 37 °C .....</b>	<b>108</b>
<b>Tabelle 33: Durchschnittliches Gewicht in kg der Katzen der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe an Tag 0 und Tag 28.....</b>	<b>109</b>
<b>Tabelle 34: Vergleich der mittels Halimeter durchgeführten Halitosismessungen (Schwefelkomponenten in ppm) der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe an Tag 0 und Tag 28, sowie Vergleich der Messungen an Tag 0 und Tag 28 innerhalb der Gruppen.....</b>	<b>110</b>
<b>Tabelle 35: Vergleich der organoleptischen Halitosismessung der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppe an Tag 0 und Tag 28 , bewertet auf einer Skala von 0 (keine Halitosis) bis 3 (starke Halitosis) .....</b>	<b>110</b>

<b>Tabelle 36: Vergleich des durchschnittlichen Gingivitsindex (GI) der einzelnen Zähne und des Gesamtgingivitisindex der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) - Gruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppe an Tag 0 und Tag 28 bewertet auf einer Skala von 0 (keine Gingivitis) bis 3 (schwere Gingivitis).....</b>	<b>111</b>
<b>Tabelle 37: Vergleich des durchschnittlichen Sondierungstiefe (PD) in mm der einzelnen Zähne und der durchschnittlichen Gesamtsondierungstiefe der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe sowie innerhalb der jeweiligen Gruppe an Tag 0 und Tag 28.....</b>	<b>113</b>
<b>Tabelle 38: Vergleich des durchschnittlichen Plaqueindex (PI) der einzelnen Zähne und des Gesamtplaqueindex der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe an Tag 28 angegeben als Produkt der Bedeckung der Zahnoberfläche (0 = keine Plaque bis 3 = über ¾ der Zahnoberfläche mit Plaque bedeckt) und Dicke des Belags (0 = keine Plaque bis 3 = dicker Belag) .....</b>	<b>114</b>
<b>Tabelle 39: Vergleich des durchschnittlichen Zahnsteinindex (PI) der einzelnen Zähne und des Gesamtplaqueindex der Kontroll- und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe an Tag 28 bewertet auf einer Skala von 0 (kein Zahnstein) bis 3 (über ¾ der Zahnoberfläche mit Zahnstein bedeckt) .....</b>	<b>115</b>
<b>Tabelle 40: Weißes Blutbild mit Leukozyten (WBC), neutrophilen Granulozyten (Neu), Lymphozyten (Lym), Monozyten (Mono), eosinophilen Granulozyten (Eos) und basophilen Granulozyten (Baso) der Kontrollgruppe und der Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe während des EGCG/LF-Versuchs an Tag 0 und Tag 28, jeweils angegeben in 10e9/l.....</b>	<b>117</b>
<b>Tabelle 41: Rotes Blutbild mit Erythrozyten (RBC in 10e12/l), Hämoglobin (Hgb in mmol/l), Hämatokrit (Hct in l/l), Mittleres Erythrozytenvolumen (MCV in fl), Mittlerer Hämoglobingehalt der Einzelerythrozyten (MCH in fmol), Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten (MCHC in mmol/l) der Kontroll- und Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs.....</b>	<b>118</b>
<b>Tabelle 42: Vergleich der Nierenwerte mit Harnstoff (HAST in mmol/l) und Kreatinin (CREA in µmol/l) sowie Fructosamin (FRUC in µmol/l) der Kontroll- und Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) -Gruppe an Tag 0 und Tag 28 des EGCG/LF-Versuchs.....</b>	<b>119</b>
<b>Tabelle 43: Antioxidativer Status der Kontroll- und Epigallocatechin Gallat/Lactoferrin (EGCG/LF) - Gruppe an Tag 0 und Tag 28: Vergleich der durchschnittlichen antioxidativen Kapazität in Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), Vitamin E -, Vitamin C-, Kreatinkinase- (CK) in IU/l und Aspartat-Amino-Transferase-(AST) Konzentration in IU/l.....</b>	<b>120</b>
<b>Tabelle 44: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 1 (Kontroll-Gruppe); (sp. = Spezies) ....</b>	<b>121</b>
<b>Tabelle 45: Bakterielle Maulflora der Katze 1 (Kontroll-Gruppe) an Tag 28; (sp. = Spezies).....</b>	<b>123</b>
<b>Tabelle 46: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 4 (Kontroll -Gruppe); (sp. = Spezies).....</b>	<b>124</b>
<b>Tabelle 47: Bakterielle Maulflora der Katze 4 (Kontroll-Gruppe) an Tag 28; (sp. = Spezies).....</b>	<b>125</b>
<b>Tabelle 48: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 11 (EGCG/LF-Gruppe); (sp. = Spezies)</b>	<b>126</b>
<b>Tabelle 49: Bakterielle Maulflora der Katze 11 (EGCG/LF-Gruppe) an Tag 28; (sp. = Spezies) .....</b>	<b>127</b>
<b>Tabelle 50: Grundstatus der bakteriellen Maulflora der Katze 12 (Kontrollgruppe); (sp. = Spezies).....</b>	<b>129</b>
<b>Tabelle 51: Bakterielle Maulflora der Katze 12 (EGCG/LF-Gruppe) an Tag 28; (sp. = Spezies) .....</b>	<b>130</b>

- Tabelle 52 In vitro entstandene Hemmhöfe in cm auf mit Bakteriensuspension bestrichenem Blutagar durch 135/135 mg, 13,5/ 13,5 mg, 1,35/1,35 mg und 0/0 mg (Kontrolle) Epigallocatechin Gallat / Lactoferrin (EGCG/LF) nach aerober (24 h) und anaerober (48 h) Inkubation bei 37 °C ..... 132**
- Tabelle 53: In vitro entstandene Hemmhöfe in cm auf mit Bakteriensuspension bestrichenem Müller-Hinton-Agar durch 135/135 mg, 13,5/ 13,5 mg, 1,35/1,35 mg und 0/0 mg (Kontrolle) Epigallocatechin Gallat / Lactoferrin (EGCG/LF) nach aerober (24 h) und anaerober (48 h) Inkubation bei 37 °C 133**

## J Literaturverzeichnis

- Ahlberg, K., M. Brannstrom und L. Ewall (1975).  
The diameter and number of dentinal tubulus in rat, cat, dog and monkey. A comperative scanning electron microscopic study.  
Acta Odontol Scand 33: 243.
- Ahmad, N., D. K. Feyes, A. L. Nieminen, R. Agarwal und H. Mukhtar (1997).  
Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells.  
J Natl Cancer Inst 89(24): 1881-1186.
- Altieri, J. V. (1995).  
Proposed augmentation of popular tooth-numbering systems addressing pontics, implants, and restoration connectors.  
Int J Oral Maxillofac Implants 10(2): 244-245.
- Alugupalli, K. R., S. Kalfas, S. Edwardsson, A. Forsgren, R. R. Arnold und A. S. Naidu (1994).  
Effect of lactoferrin on interaction of Prevotella intermedia with plasma and subepithelial matrix proteins.  
Oral Microbiol Immunol 9(3): 174-179.
- Anderson, R. (1982).  
Effects of Ascorbate on Normal and Anbormal Leucocyte Functions.  
Int J Vit Nutr Res 23: 23-34.
- Arnold, R. R., M. F. Cole und e. al (1977).  
A bactericidal effect for human lactoferrin.  
Science 197(4300): 263-265.
- Auvil, J. D. (2002).  
Managing Dental Health in Companion Animals: Oral Health Care Options.  
North American Veterinary Conference, Orlando, Florida, USA.
- Bahn, A. N. (2000).  
Microbial Potential in the Etiology of Periodontal Disease.  
Oral Microbiol Immunol 15(5): 603-610.
- Banic, S. (1982).  
Immunostimulation by Vitamin C.  
Int J Vit Nutr Res 23: 49-52.
- Barthold, K.-P. (1987).  
Zahnstein im Kleintiergebiß.  
Der praktische Tierarzt 5: 44-47.
- Beck, J. D., R. Garcia, G. Heiss, P. S. Vokonas und S. Offenbacher (1996).  
Periodontal disease and cardiovascular disease.  
J Periodont 67: 1123-1137.

- Belok, G. (2003).  
Tooth notation confusion.  
Br Dent J 194(12): 646.
- Bendich, A. und M. Cohen (1990).  
Ascorbic acid safety: analysis of factors affecting iron absorption.  
Toxicol Lett 51(2): 189-201.
- Bieniek, H.-J. und K. W. Bieniek (1993).  
Zahnheilkunde für die Kleintierpraxis.  
Stuttgart, Enke.
- Bojrab, M. J. und M. Tholen (1990).  
Small Animal Oral Medicine and Surgery.  
Philadelphia, Lea & Febiger.
- Boyce, E. N. (1992).  
Feline Experimental Models for Control of Periodontal Disease.  
Vet Clin North Am Small Anim Pract 22(6): 1309-1321.
- Boyce, E. N. und E. I. Logan (1994).  
Oral Health Assessment in Dogs: Study Design and Results.  
J Vet Dent 11(2): 64-70.
- Brock, J. H. (2002).  
The physiology of lactoferrin.  
Biochem Cell Biol 80(1): 1-6.
- Buddecke, E. (1981).  
Biochemische Grundlagen der Zahnmedizin.  
Berlin, Walter de Gruyter.
- Budras, K.-D. (1989).  
Atlas der Anatomie des Hundes.  
Hannover, Schlütersche Verlagsanstalt.
- Bützer, P. (2004).  
Vitamin C.  
[www.educeth.ch/chemic/schwerpunkte/vite/docs/vitc.pdf](http://www.educeth.ch/chemic/schwerpunkte/vite/docs/vitc.pdf).
- Cameron, E. (1982).  
Vitamin C and Cancer: an Overview.  
Int J Vit Nutr Res 23: 115-127.
- Carr, A. und B. Frei (1999).  
Does vitamins C act as a pro-oxidant under physiological conditions?  
FASEB J 13: 1007-1024.
- Chatterjee, I. B., A. K. Majumder, B. K. Nandi und N. Subramanian (1975).  
Synthesis and some major functions of vitamin C in animals.  
Ann NY Acad Sci 258: 24-47.



Chinoy, N. J., R. R. Mehta, L. Seethalakshmi, J. d. Sharma und M. R. Chinoy (1986).  
Effects of vitamin C deficiency on physiology of male reproductive organs of guinea pigs.  
Int J Fertil 31(3): 232-239.

Chow, H. H., Y. Cai, I. A. Hakim, J. A. Crowell, F. Shahi, C. A. Brooks, R. T. Dorr, Y. Hara  
und D. S. Alberts (2003).  
Pharmacokinetics and safety of green tea polyphenols after multiple-dose administration of  
epigallocatechin gallate and polyphenon E in healthy individuals.  
Clin Cancer Res 9(9): 3312-3319.

Clarke, D. E. (1999).  
The crystalline components of dental calculus in the domestic cat.  
J Vet Dent 16(4): 165-168.

Clarke, D. E. (2001).  
Clinical and Microbiological Effects of Oral Zinc Ascorbate Gel in Cats.  
J Vet Dent 18(4): 177-183.

Clarke, D. E. und A. Cameron (1998).  
Relationship between diet, dental calculus and periodontal disease in domestic and feral cats  
in Australia.  
Aust Vet J 76(10): 690-693.

Clarke, N. G. und R. S. Hirsch (1995).  
Personal risk factors for generalized periodontitis.  
J Clin Periodontol 22: 136-145.

Crawford, J. M. (1988).  
Periodontal disease in sickle cell disease subjects.  
J Periodontol 59(3): 164-169.

DeBowes, L. (1993).  
Veterinary Dentistry '93.  
Auburn, Academy of Veterinary Dentistry and American Veterinary Dental College: 47.

DeBowes, L. (1998).  
Grundlagen der Zahnhygiene und -behandlung bei Hund und Katze.  
Hill's Pet Nutrition: Zahnhygiene bei Hund und Katze: 5-9.

Dewar, M. R. (1958).  
Bacterial Enzymes and Periodontal Disease.  
J Dent Res 37: 100.

Dion, P. W., E. B. Bright-See, C. C. Smith und W. R. Bruce (1982).  
The effect of dietary ascorbic acid and alpha-tocopherol on fecal mutagenicity.  
Mutat Res 102(1): 27-37.

Dobrescu, M. V. (1993).  
Anwendung des Parodontalstatus in der Veterinärstomatologie.  
Tierärztl. Umschau 48: 389 - 390.

- Dobrescu, M. V. (1997).  
Klinisch-pathologische Aspekte in Parodontopathien bei der Katze - Ein Modell auch für Menschen. Teil II - Stadien und Therapie der Parodontopathien.  
Tierärztl. Umschau 52: 718-721.
- Dreizen, S., M. L. Barnet und S. Bernick (1969).  
Studies on the Biology of the Periodontium of Marmosets. VII. The effect of Vitamin C Deficiency on the Marmoset Periodontium.  
J periodont Res 4:274-280.
- Dufresne, C. J. und E. R. Farnworth (2001).  
A review of latest research findings on the health promotion properties of tea.  
J Nutr Biochem 12(7): 404-421.
- Dummet, C. O. und G. Barends (1970).  
Feline oral pigmentation.  
J Periodont 41(12): 696-701.
- Dzink, J. L., A. C. R. Tanner, A. D. Haffajee und S. S. Socransky (1985).  
Gram negative species associated with active destructive periodontal lesions.  
J Clin Periodontol 12: 648-659.
- Eastoe, J. E. (1963).  
The amino acid composition of proteins from the oral tissues. I. A comparison of human oral epithelium, epidermis and nail proteins.  
Achs Oral Biol 8: 449-458.
- Ebersole, J. L., D. Capelli, G. Mott, L. Kesavalu, S. C. Holt und R. E. Singer (1999).  
Systemic manifestations of periodontitis in the non-human primate.  
J Periodont Res 34: 358-362.
- Ebner, J. (2004).  
Dissertation in Vorbereitung. Diss Med Vet.  
München, TU-München.
- Edtstadtler-Pietsch, G. (2003).  
Untersuchungen zum Energiebedarf von Katzen. Diss Med Vet.  
München, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Eisenmenger, E. und K. Zetner (1982).  
Tierärztliche Zahnheilkunde.  
Berlin und Hamburg, Parey.
- Eisenmenger, E. und K. Zetner (1984).  
Die Gefährdung des Tierarztes bei der Ultraschall-Zahnstein-Entfernung.  
Kleintierpraxis 29: 35-38.
- Eisenmenger, E. und K. Zetner (1985).  
Veterinary Dentistry.  
Philadelphia, Pa, Lea & Febiger.

- Eisner, E. R. (1989).  
Periodontal disease in pets: The pathogenesis of a preventable problem.  
Veterinary Medicine Jan: 97-104.
- Eisner, E. R. (1989).  
Treating the early stages of periodontal disease.  
Veterinary Medicine Jul: 698-708.
- Eisner, E. R. (2003).  
Professional and Home Dental Care of Adult Dog and Cat.  
The 8th World Veterinary Dental Congress, Kyoto, Japan, IAMS Company.
- Elderton, R. J. (1989).  
Keeping up-to-date with tooth notation.  
Br Dent J 166(2): 55-56.
- Emily, P. und S. Penman (1990).  
Small Animal Dentistry.  
New York, Pergamon Veterinary Handboock Series.
- Fahrenkrug, P. (1986).  
Handbuch der Zahnbehandlung in der Kleintierpraxis.  
Hamburg, A.Albrecht.
- Fives-Taylor, P. M., D. H. Meyer, K. P. Mintz und C. Brissette (1999).  
Virulence Factors of Actinobacillus actinomycetemcomitans.  
Periodontol 2000 20: 136-167.
- Floyd, M. R. (1991).  
The modified Triadan System: Nomenclature for Veterinary Dentistry.  
J Vet Dent 8(4): 18-19.
- Forsberg, A. (1969).  
The periodontal tissue of mandibular premolars and molars in some mammals.  
Svensk Tandlarkare-Tidskrift 62(suppl 1): 10.
- Fowler, E. B. (2001).  
Periodontal Disease and its Association with Systemic Disease.  
Military Medicine 166: 85-88.
- Franceschi, R. T. (1992).  
The role of ascorbic acid in mesenchymal differentiation.  
Nutr Rev 50(3): 65-70.
- Frei, B. und J. V. Higdon (2003).  
Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies.  
J Nutr 133(10): 3275S-3284S.
- Frost, P. und C. A. Williams (1986).  
Feline dental disease.  
Vet Clin North Am Small Anim Pract 16(5): 851-873.

Fujiki, H., M. Suganuma, S. Okabe, E. Sueoka, K. Suga, K. Imai, K. Nakachi und S. Kimura (1999).

Mechanistic findings of green tea as cancer preventive for humans.

Proc Soc Exp Biol Med 220(4): 225-8.

Gaffar, A., J. Afflitto und N. Nabi (1997).

Chemical agents for the control of plaque and plaque microflora: an overview.

Eur J Oral Sci 14: 502-507.

Gaskell, C. J. und T. J. Gruffydd-Jones (1985).

Feline Medicine and Therapeutics.

Oxford, Blackwell Scientific.

Gengler, W. (2002).

Managing Dental Health in Companion Animals: Oral Health Care Options.

Current Perspectives in Canine and Feline Dental Health Management: 13-18.

Girard, N. und C. Saecker (2002).

Stay-C50, A Stable Vitamin C in Oral Care Products.

[www.ctmw.com/articles2002/roche/roche1.html](http://www.ctmw.com/articles2002/roche/roche1.html), Roche Vitamins Ltd. 2004.

Goldenberg, H. und E. Schweinzer (1994).

Transport of vitamin C in animal and human cells.

J Bioenerg Biomembr 26: 359-367.

Goldschmidt, M. C. (1991).

Reduced bactericidal activity in neutrophils from scorbutic animals and the effect of ascorbic acid on these target bacteria in vivo and in vitro.

Am J Clin Nutr 54: 1214S-1220S.

Gorrel, C. (1998).

Periodontal Disease and Diet in Domestic Pets.

Waltham international Symposium on Pet Nutrition and Health in the 21st Century.

Orlando, American Society for Nutritional Sciences.

Gorrel, C. (2000).

Home Care: Product and Techniques.

Clinical Techniques in Small Animal Practice 15(4): 226-231.

Gorrel, C. (2001).

A Practical Approach to Managing Periodontal Disease.

AVDS Foundation Series.

Gorrel, C., C. Inskeep und T. Inskeep (1998).

Benefits of a "Dental Hygiene Chew" on the Periodontal Health of Cats.

J Vet Dent 15(3): 135-138.

Gorrisen, S. (2004)

Epigallocatechingallat und Lactoferrin in der Prophylaxe parodontaler Erkrankungen der Katze. Diss Med Vet (eingereicht).

München, Ludwigs-Maximilians-Universität München.

- Graham, H. N. (1992).  
Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry.  
*Prev Med* 21(3): 334-350.
- Grant, D. und S. Bernick (1971).  
Morphodifferentiation and structure of Hertwig's root sheath in the cat.  
*J Dent Res* 50(6): 1580-1088.
- Grossi, S. G. und R. J. Genco (1998).  
Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship.  
*Ann Periodontol* 3(1): 51-61.
- Grove, T. K. (1985).  
Veterinary dentistry.  
Philadelphia, Penn, Saunders.
- Halberg, L., M. Brune und L. Rossander (1989).  
The role of vitamin C in iron absorption.  
*Int J Vitam Nutr Res Suppl* 30: 103-108.
- Halliwell, B. (1994).  
Free radicals and antioxidants: a personal view.  
*Nutr Rev* 25(8 Pt 1): 253-265.
- Halliwell, B. (1995).  
How to characterize an antioxidant: an update.  
*Biochem Soc Symp* 61: 73-101.
- Harvey, C. E. (1991).  
Oral Inflammatory Diseases in Cats.  
*J Am Anim Hosp Assoc* 27: 585-591.
- Harvey, C. E. (2002).  
Shape and Size of Teeth of Dogs and Cats-Relevance to Studies fo Plaque an Calculus Accumulation.  
*J Vet Dent* 19(4): 186-195.
- Harvey, C. E. und P. Emily (1993).  
Periodontal disease.  
Small animal dentistry.  
Philadelphia, Saunders: 59-78.
- Hawkins, B. J. (1986).  
Periodontal Disease. Therapy and Prevention.  
*Vet Clin N Amer* 16(5): 835-849.
- Hayashi, K. und K. Hideo (1989).  
Microhardness of enamel and dentin of cat premolar teeth.  
*Jpn J Vet Sci* 51(5): 1033-1035.

Hayatsu, H., N. Inada, T. Kakutani, S. Arimoto, T. Negishi, K. Mori, T. Okuda und I. Sakata (1992).

Suppression of genotoxicity of carcinogens by (-)-epigallocatechin gallate.  
Prev Med 21(3): 370-376.

Hees, H. und F. Sinowatz (1992).

Histologie - Kurzlehrbuch der Zytologie und mikroskopischen Anatomie.  
Köln, Deutscher Ärzteverlag.

Hefferren, J. J., T. G. Schiff und M. R. Smith (1994).

Assesment Methods and Clinical Outcomes: Chemical and Microbial Composition,  
Formation and Maturation Dynamics of Pellicle, Plaque and Calculus.  
J Vet Dent 11(2): 75-79.

Hellwig, E., J. Klimek, T. Attin (1999).

Einführung in die Zahnerhaltung.  
München, Urban & Fischer.

Hemrika-Wagner, A. M., A. L. J. J. Bronckers und K. H. M. Wöltgens (1982).

Ultrastructural changes in developing hamster molars during vitamin C deficiency in vitro.  
J Biol Buccale 10: 163-172.

Hennet, P. (1995a).

Dental Anatomy and Physiology of Small Carnivores.  
Manual of Small Animal Dentistry. D. A. Crossley and S. Penman. Hants, BSAVA.

Hennet, P. (1995b).

Periodontal disease and Oral Microbiology.  
Manual of Small Animal dentistry. D. A. Crossley and S. Penman.  
Hants, BSAVA.

Hennet, P. R. (1992).

Periodontal disease in dogs and cat.  
Tijdschrift Diergenesesk 117(suppl 1): 38S-39S.

Holland, G. (1975).

The dentinal tubule and odontoblast process in the cat.  
J Anat. 120(1): 169-177.

Hollman, P. C., L. B. Tijburg und C. S. Yang (1997).

Bioavailability of flavonoids from tea.  
Crit Rev Food Sci Nutr 37(8): 719-738.

Holmstrom, S. (2000).

Veterinary Dentistry for the technician and office staff.  
Philadelphia, Saunders.

Hornig, D. (1975).

Distribution of Ascorbic Acid, Metabolites and Analogues in Man and Animals.  
Ann NY Acad Sci 258: 103-118.

- Huang, Y., A. Zhang, C. W. Lau und Z. Y. Chen (1998).  
Vasorelaxant effects of purified green tea epicatechin derivatives in rat mesenteric artery.  
*Life Sci* 63(4): 275-283.
- Ingham, K. E., C. Gorrel und T. L. Bierer (2002).  
Effect of a Dental Chew on Dental Substrates and Gingivitis in Cats.  
*J Vet Dent* 19(4): 201-204.
- Isogai, E., H. Isogai, H. Miura, K. Takano, Y. Aoi, M. Hayashi und S. Namioka (1989).  
Oral Flora of Mongrel and Beagle Dogs with Periodontal Disease.  
*Jap Vet Med Assoc* 41: 549-554.
- Jacob, R. A., S. T. Omaye, J. H. Skala, P. J. Leggott, D. L. Rothman und P. A. Murray (1987).  
Experimental vitamin C depletion and supplementation in young men. Nutrient interactions and dental health effects.  
*Ann NY Acad Sci* 498: 333-346.
- Jensen, L., E. L. Logan, O. Finney und e. al. (1995).  
Reduction in Accumulation of Plaque, Stain and Calculus in Dogs by Dietary Means.  
*J Vet Dent* 12(4): 161-163.
- Kahlau, D. (2003).  
Persönliche Mitteilung.
- Karlson, P., D. Doenecke und J. Koolman (1994).  
Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler.  
Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag.
- Keith, R. E. (1989).  
Dietary vitamin C supplementation and plasma vitamin E levels in humans.  
*Am J Clin Nutr* 33: 2394.
- Kesel, M. L. (2000).  
Veterinary dentistry for the small animal technician.  
Iowa, Iowa State University Press/Ames.
- Kinane, D. F. und G. J. Marshall (2001).  
Periodontal manifestations of systemic disease.  
*Aust Dent J* 46(1): 2-12.
- Kirstila, V., M. Lenander-Lumikari, E. Soderling und J. Tenovuo (1996).  
Effects of oral hygiene products containing lactoperoxidase, lysozyme, and lactoferrin on the composition of whole saliva and on subjective oral symptoms in patients with xerostomia.  
*Acta Odontol Scand* 54(6): 391-397.
- Klein, T. (2000).  
Predisposing Factors and Gross Examination Findings in Periodontal Disease.  
*Small Animal Practice* 15(4): 189-203.

- Kolb, E. und J. Seehawer (1997).  
Die Bedeutung der Ascorbinsäure für die Zellfunktion, Wachstum, Fortpflanzung, Immunsystem und Wundheilung.  
Praktischer Tierarzt 78(10): 915-924.
- Kraft, W. und U. M. Dürr (1999).  
Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin.  
Stuttgart, New York, Schattauer.
- Kraft, W. R. M. und J. Hirschberger (2000).  
Kleintierkrankheiten. Innere Medizin.  
Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer.
- Krahwinkel, T. und B. Willershausen (2000).  
The effect of sugar-free green tea chew candies on the degree of inflammation of the gingiva.  
Eur J Med Res 5(11): 463-467.
- Lamont, R. J. und H. F. Jenkinson (1998).  
Life below gum line: pathogenic mechanisms of Porphyromonas gingivalis.  
Microbiol Mol Biol Rev 62(4): 1244-1263.
- Lane, J. G. (1982).  
ENT and Oral Surgery of Dog and Cat.  
Bristol, Wright.
- Lange, D. E. und H. E. Schroeder (1971).  
Cytochemistry and ultrastructure of gingival sulcus cells.  
Helv odont Acta 15: 65-86.
- Laur, P. (2003).  
Wirkung von Lactoferrin auf den Organismus neonataler Hundewelpen. Diss Med Vet.  
München, Ludwigs-Maximilians-Universität München.
- Leggott, P. J., P. B. Robertson, D. L. Rothman, P. A. Murray und R. A. Jacob (1986).  
The effect of controlled ascorbic acid depletion and supplementation on periodontal health.  
J Periodont 57(8): 480-485.
- Lewinsky, W. und D. Stewart (1937).  
The innervation of the periodontal membrane of the cat, with some observations on the function of the end-organs found in that structure.  
J Anat. 71: 223-235.
- Listgarten, M. A. (1988).  
The role of dental plaque in gingivitis and periodontitis.  
J Clin Periodontol 15: 485-487.
- Liu, T. und Y. Chi (2000).  
Experimental study on polyphenol anti-plaque effect in human.  
Zhonghua Kou Qing Yi Xue Za Zhi 35(5): 383-384.



- Loesche, W. J., S. A. Syed, E. Schmidt und E. C. Morrison (1985).  
Bacterial profiles of subgingival plaque in periodontitis.  
*J Periodont* 56: 447-456.
- Loescher, A. R. und G. R. Holland (1991).  
Distribution and morphological characteristics of axons in the periodontal ligament of cat canine teeth and the changes observed after reinnervation.  
*Anat Rec* 230(1): 57-72.
- Logan, E. I. (1995).  
Oral Cleansing by Dietary Means: Results of Six-Month Studies.  
Proceedings Companion Animal Oral Health, Lawrence, KS.
- Logan, E. I. (1998a).  
Erkrankungen im Bereich der Mundhöhle bei Katzen.  
*Hill's Pet Nutrition: Zahnhygiene bei Hund und Katze*. 33-37.
- Logan, E. I. (1998b).  
Zahn- und Mundhygiene durch Fütterungsmaßnahmen: Untersuchungsmethodik und Ergebnisse bei der Katze.  
*Hill's Pet Nutrition: Zahnhygiene bei Hund und Katze*. 37-41.
- Logan, E. I. (1998c).  
Zahnpflegeprodukte: Leitfaden zur Wirksamkeit, Sicherheit und Anwendung.  
*Hill's Pet Nutrition: Zahnhygiene bei Hund und Katze*: 11-16.
- Lonsdale, T. (1995).  
Periodontal disease and leukopenia.  
*Journal of Small Animal Practice* 36: 542-546.
- Love, D. N., J. L. Johnson und L. V. H. Moore (1989).  
Bacteroides Species from the Oral Cavity and Oral-associated Diseases of Cats.  
*Vet Microbiol* 19: 275-281.
- Love, D. N., R. Vekselstein und S. Collings (1990).  
The obligate and facultatively anaerobic bacterial flora of the normal feline gingival margin.  
*Vet Microbiol* 22(2-3): 267-275.
- Luck, M. R. und Y. Zhao (1993).  
Identification and measurement of collagen in the bovine corpus luteum and its relationship with ascorbic acid and tissue development.  
*J Reprod Fertil* 99(2): 647-652.
- Ma, J., T. Sorsa, C. R. Billingham, R. A. Poole, U. Kitti, S. Santavirta und Y. T. Kontinen (2003).  
Direct evidence of collagenolysis in chronic periodontitis.  
*J Periodontal Res* 38(6): 564-567.
- Mackey, B. M. und D. A. Seymour (1989).  
The bactericidal effect of isoascorbic acid combined with mild heat.  
*J Appl Bacteriol* 67: 626-638.

- Maiwald, E. (1994).  
Untersuchungen zum Ascorbinsäure-Stoffwechsel bei der Katze.  
Diss med vet. München, Ludwig-Maximilians-Universität.
- Mallonee, D. H., C. E. Harvey, M. Venner und B. F. Hammond (1988).  
Bacteriology of periodontal disease in the cat.  
Archs oral Biol 33(9): 677-683.
- Mc Abee, D. D. und K. Esbensen (1993).  
Binding and enocytosis of apo- and holo-lactoferrin by isolated rat hepatocytes.  
J Biol Chem 266: 23624-23631.
- McDowell, L. R. (2000).  
Vitamins in Animal and Human Nutrition.  
Iowa, Iowa Staaate University Press / Ames.
- Mergenhagen, S. E. (1967).  
Nature and Significance of Somatic Antigens of Oral Bacteria.  
J Dent Res 46: 46.
- Metz, G. (2000).  
Teetrinken ist Königsdisziplin.  
Pharmazeutische Zeitung 31(4): 1-6.
- Meyer, D. H. und P. M. Fives-Taylor (1998).  
Oral pathogens: from dental plaque to cardiac disease.  
Curr Opin Microbiol 1: 88-95.
- Mihaljevic, S.-Y. und B. U. Klein (1998).  
Die Rolle von Oralstreptokokken als Indikatorkeime bei Parodontalerkrankungen von Hunden und Katzen.  
Kleintierpraxis 43(12): 871-948.
- Miller, N. J., C. Rice-Evans, M. J. Davies, V. Gopinathan, A. Milner (1993).  
A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates.  
Clin Sci 84: 407-412.
- Molloy, T. P. und C. W. M. Wilson (1980).  
Protein-binding of Ascorbic Acid.  
Int J Vit Nutr Res 50: 380-386.
- Moore, L. V. H., W. E. C. Moore, E. P. Cato, R. M. Smibert, J. A. Burmeister und A. M. Best (1987).  
Bacteriology of human gingivitis.  
J Dent Res 66: 989-995.
- Moser, U. und A. Bendich (1991).  
Handbook of Vitamins.  
New York, Decker.

- Naumann, C., R. Bassler, R. Seibold und C. Barth (1997).  
Methodenbuch Band 3.  
Darmstadt, VDLUFA.
- Nicolet, J. (1985).  
Kompendium der veterinärmedizinischen Bakteriologie.  
Berlin und Hamburg, Paul Parey.
- Nieves, M. A., P. Hartwig, J. M. Kinyon und D. H. Riedesel (1997).  
Bacterial Isolates From Plaque and From Blood During and After Routine Dental Procedures  
in Dogs.  
Vet Surg 26: 26-32.
- Nolte, I. und M. Eickhoff (2003).  
Krankheiten der Maulhöhle.  
Katzenkrankheiten - Klinik und Therapie. W. KRAFT and U. M. DÜRR.  
Alfeld (Leine) - Hannover, M & H Shaper GmbH & Co KG. 2: 722-740.
- Norris, J. M. und D. N. Love (1999).  
Associations amongst three feline Porphyromonas species from the gingival margin of cats  
during periodontal health and disease.  
Veterinary Microbiology 65: 195-207.
- NRC (1986).  
Nutrient Reuirements of Domestic Animals, Nutrient Requirement of Cats.  
Washington, DC, National Academyof Sciences - National Research Council.
- Offenbacher, S. (1996).  
Periodontal disease: Pathogenesis.  
Ann Periodont 1(1): 821-878.
- Ohmori, Y., M. Ito, M. Kishi, H. Mizutani, T. Katada und H. Konishi (1995).  
Antiallergic constituents from oolong tea stem.  
Biol Pharm Bull 18(5): 683-686.
- Orsini, P. und P. Hennet (1992).  
Anatomy of the mouth and teeth of the cat.  
Vet Clin North Am Small Anim Pract: 0195-5616.
- Osada, K., M. Takahashi, S. Hoshina, M. Nakamura, S. Nakamura und M. Sugano (2001).  
Tea catechins inhibit cholesterol oxidation accompanying oxidation of low density  
lipoproteins in vitro.  
Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 128(2): 153-164.
- Otake, S., M. Makimura, T. Kuroki, Y. Nishihara und M. Hirasawa (1991).  
Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea.  
Caries Res 25(6): 438-443.
- Peck, S. und L. Peck (1993).  
A time for change of tooth numbering systems.  
J Dent Educ 57(8): 643-647.

- Pedersen, N. C. (1992).  
Inflammatory oral cavity disease of the cat.  
Vet Clin North Am Small Anim Pract 22(6): 1323-1345.
- Pilz, W., C. H. Plathner und H. Taatz (1969).  
Grundlagen der Kariologie und Endodontie. J. A. Barth.  
Leipzig, Barth.
- Plumb, T. (1995).  
Veterinary Drug Handbook.  
Iowa, Iowa State University Press/Ames.
- Pollmeier, S. (1994).  
Der Einfluss von Politurmaßnahmen nach Zahnsteinentfernung auf die Neubildung von Plaque und Zahnstein im Hundegebiß. Diss Vet Med.  
Berlin, Freie Universität Berlin.
- Raederstorff, D. G., M. F. Schlachter, V. Elste und P. Weber (2003).  
Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats.  
J Nutr Biochem 14(6): 326-323.
- Rateitschak, K. H. (1989).  
Parodontologie.  
Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- Rawal, B. D. (1978).  
Bacterial action of ascorbic acid on Pseudomonas aeruginosa: alteration of cell surface as a possible mechanism.  
Chemotherapy 23: 166-177.
- Reichart, P. A., U.-M. Dürr, H. Triadan und G. Vickendey (1984).  
Periodontal disease in the domestic cat: A histologic study.  
J Periodont Res 19: 67-75.
- Robinson, J. G. A. (1995).  
Chlorhexidine Gluconate - The Solution for dental problems.  
J Vet Dent 12(1): 29-31.
- Rothwell, P. S. (1989).  
Keeping up-to-date with tooth notation.  
Br Dent J 166(7): 244-245.
- Röttscher, K. (1994).  
Probleme der zahnärztlichen Befunderhebung und der Zahnregistrierung.  
Newsletter AKFOS(1): 6.
- Rovelstad, G. H., J. H. Geller und A. H. Cohen (1958).  
The Hyaluronidas Activity of Saliva. II. The Relationship of Hyaluronidase Activity to Dental Caries Experience, Gingivitis and Oral Hygiene in the Young Adult Male.  
J Dent Res 33: 114.

Rubinoff, A. B., P. A. Latner und L. A. Pasut (1989).  
Vitamin C and oral health.  
Can Dent Assoc 55(9): 705-707.

Sakanaka, S., M. Aizawa, M. Kim und T. Yamamoto (1996).  
Inhibitory Effects of Green Tea Polyphenols on Growth and Cellular Adherence of an Oral  
Bacterium, Porphyromonas gingivalis.  
Biosci Biotech Biochem 60(5): 745-749.

Sams, D. L. und C. E. Harvey (1989).  
Oral and dental diseases.  
The Cat Diseases and Clinical Management. R. G. Sherding.  
New York, Churchill Livingstone: 875-890.

Sato, R., O. Inanami, Y. Tanaka, M. Takase und Y. Naito (1996).  
Oral administration of bovine lactoferrin for treatment of intractable stomatitis in feline  
immunodeficiency virus (FIV)-positive and FIV-negative cats.  
Am J Vet Res 57(10): 1443-1446.

Savitt, E. D. und S. S. Socransky (1984).  
Distribution of certain subgingival microbial species in selected periodontal conditions.  
J periodont Res 19: 111-113.

Scannapieco, F. A. und M. J. Levine (1990).  
Saliva and dental pellicles.  
Contemporary Periodontics: 117-125.

Scannapieco, F. A. und J. M. Mylotte (1996).  
Relationships Between Periodontal Disease and Bacterial Pneumonia.  
J Periodontol 1996(67): 114-1122.

Schäfer, C. (2002).  
Unerwünschte Wirkungen von Plaque-Anfärbemitteln.  
Prophylaxe Impuls 6: 12-16.

Schmidt, K. (1997).  
Interaction of antioxidative micronutrients with host defense mechanisms. A critical review.  
Int J Vitam Nutr Res 67(5): 307-311.

Schow, S. R. (1966).  
A Serial Study of Ascorbic Acid Depletion in the Guinea Pig.  
J Dent Res 45: 1232.

Schroeder, H. E. (1986).  
The Peridontium.  
Berlin, Springer.

Schumacher, G. (1990).  
Anatomie und Biochemie der Zähne.  
Berlin, VEB Verlag Volk und Gesundheit.

- Schummer, A. und K.-H. Habermehl (1987).  
Verdauungsapparat.  
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere - Eingeweide. K.-H. Habermehl, B. Vollmerhaus and H. Wilkens.  
Berlin, Blachwell Wissenschafts-Verlag. 2.
- Schwarzer, J. (2004).  
Einfluss probiotischer Substanzen auf den antioxidativen Status von neugeborenen Hundewelpen. Diss Med Vet.  
München, Ludwigs-Maximilians-Universität München.
- Seiferle, E. und G. Böhme (1992).  
Nervensystem, Sinnesorgane, Endokrine Drüsen. R. Nickel, A. Schummer, E. Seiferle.  
Berlin und Hamburg, Parey.
- Seymour, G. J., E. Gemmel, M. Kjeldsen, K. Yamazaki, T. Nakajima und K. Hara (1996).  
Cellular immunity and hypersensitivity as component of periodontal destruction.  
Oral Dis 2(1): 96-101.
- Shipp, A. D. und P. Fahrenkrug (1992).  
Practitioners guide to veterinary dentistry.  
Griffin Printing.
- Silva, D. G. (1972).  
Ultrastructural studies on the cervical loop and the development of the amelo-dentinal junction in the cat.  
Arch Oral Biol 17: 279-289.
- Slots, J. (1976).  
The predominant cultivable organisms in juvenile periodonts.  
Scand J dent 84: 1-10.
- Smith, S., P. H. Bick, G. A. Miller und e. al. (1980).  
Polyclonal B-cell activation: Severe periodontal disease in young adults.  
Clin Immunol Immunopathol 16: 354-366.
- Soder, P. O. und G. Frostell (1966).  
Proteolytic Activity of Dental Plaque Material. I. Action of Dental Plaque Material on Ozocoll, Sasein and Gelatin.  
Acta Odontol Scand 24: 501.
- Stohrer, M., S. Lutz und M. Stangassinger (2001).  
Antioxidativer Status von Neugeborenen und Jungtieren.  
Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier. 8. Symposium, Jena.
- Syed, S. A., M. Svanberg und G. Svanberg (1980).  
The predominant cultivable dental plaque flora of beagle dogs with gingivitis.  
J periodot Res 15: 123-136.

- Taichman, N. und J. Lindhe (1992).  
Pathogenesis of plaque-associated periodontal disease.  
Copenhagen, Munksgaard.
- Tanner, A. C. R., J. L. Dzink, J. L. Ebersole und S. S. Socransky (1987).  
Wolinella recta, Campylobacter concisus, Bacteroides gracilis and Eikenella corrodens from  
periodontal lesions.  
J periodont Res 22: 327-330.
- Tanner, A. C. R., C. Haffer, G. T. Bratthall, R. A. Visconti und S. S. Socransky (1979).  
A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man.  
J Periodont 19: 133-145.
- Teng, Y.-T. A., G. W. Taylor, F. Scannapieco, D. F. Kinane, M. Curtis, J. D. Beck und S.  
Kogon (2002).  
Periodontal Health and Systemic Disorders.  
Journal of the Canadian Dental Association 68(3): 188-190.
- Tenovuo, J. (1998).  
Antimicrobial function of human saliva - how important is it for oral health.  
Acat Odontol Scand 56: 250-256.
- Tew, J., D. Engel und D. Margan (1989).  
Polyclonal B-cell activation in periodontitis.  
J periodont Res 24: 225-241.
- Tholen, M. A. (1983).  
Concepts in Veterinary Dentistry.  
Edwardsville, Kan, Veterinary Medicin Publishing Co.
- Toggenburger, G., M. Häußermann, B. Mütsch, G. Genoni, M. Kessler, F. Weber, D. Hornig,  
B. O'Neil und G. Semenza (1981).  
Na<sup>+</sup>-dependent, potential-sensitive l-Ascorbate transport across brush border membrane  
vesicles from kidney cortex.  
Biochimica et Biophysica Acta 646: 433-434.
- Toto, P. D. und A. W. Gargiulo (1970).  
Epithelial and connective tissue changes in periodontitis.  
J Periodontol 41(10): 587-90.
- Tromp, J. A., L. J. van Rijn und J. Jansen (1986).  
Experimental gingivitis and frequency of tooth brushing in the beagle dog model.  
J Clin Periodontol 1986(13): 139-143.
- Trykowsky, J., B. Patalias und M. Senator (1994).  
The use of toothpaste with vitamin C in treating periodontitis.  
Stomatologia (Mosk.) 73(1): 11-13.
- Tsuchiya, H. (2001).  
Stereospecificity in membrane effects of catechins.  
Chem Biol Interact 134(1): 41-54.

- Valdez, M., R. Haines, K. H. Riviere, G. R. Riviere und D. D. Thomas (2000).  
Isolation of oral spirochetes from dogs and cats and provisional identification using polymerase chain reaction (PCR) analysis specific for human plaque *Treponema* spp.  
*Vet Dent* 17(1): 23-26.
- Van Foreest, A. (1995).  
Veterinary dentistry (9). Classification, nomenclature and identification of animal dentition.  
*Tijdschr Diergeneeskd* 120(8): 233-240.
- Vera, J. C., C. I. Rivas, J. Fischbarg und D. W. Golde (1993).  
Mammalian facilitative hexose transporters mediate the transport of dehydroascorbic acid.  
*Nature* 364(6432): 79-82.
- Verstraete, F. J. und C. H. Terpak (1997).  
Anatomical variations in the dentition of the domestic cat.  
*J Vet Dent* 14(4): 137-40.
- Von Schulp, D. (1982).  
Epidemiologische und morphologische Untersuchungen am Katzengebiss I, Mitteilung: Epidemiologische Untersuchungen.  
*Kleintierpraxis* 27: 87-94.
- Watson, A. D. J. (1994).  
Diet and periodontal disease in dogs and cats.  
*Australian Veterinary Journal* 7: 313-318.
- Weber, T. (2003).  
Zahnmedizin.  
Stuttgart, New York, Thieme.
- Weinberg, E. D. (2001).  
Human lactoferrin: a novel therapeutic with broad spectrum potential.  
*J Pharm Pharmacol* 53(10): 1303-1310.
- White, D. J. (1997).  
Dental calculus: recent insights into occurrence, formation, prevention, removal and oral health effects of supragingival and subgingival deposits.  
*Eur J Oral Sci* 105: 508-522.
- Whittaker, C. J., C. M. Klier und P. E. Kohlenbrander (1996).  
Mechanisms of Adhesion by Oral Bacteria.  
*Annu Rev Microbiol* 50: 513-552.
- Williams, C. A. und S. M. Aller (1992).  
Gingivitis / Stomatitis in Cats.  
*Vet Clin North Am Small Anim Pract* 22(6): 1361-1383.
- Woolfe, S. N., E. B. Kenney, W. R. Hume und F. A. Carranza (1984).  
Relationship of ascorbic acid levels of blood and gingival tissue with response to periodontal therapy.  
*J Clin Periodontol* 11: 159-165.



Yamauchi, K., T. Toida, S. Nishimura, E. Nagano, O. Kusuoka, S. Teraguchi, H. Hayasawa, S. Shimamura und M. Tomita (2000).

13-Week oral repeated administration toxicity study of bovine lactoferrin in rats.  
Food Chem Toxicol 38(6): 503-12.

Yurdukoru, B. (1989).

[Standardization of the tooth numbering systems].  
Ankara Univ Hekim Fak Derg 16(3): 527-31.

Zetner, K. H. (2001).

Erkrankungen in der Mundhöhle der Katze.  
Berlin, FKDVG.

Zetner, K.H. (1994).

Fortschritte in der Tierzahn-Heilkunde.  
Waltham International Focus Dossier.

Zetner, K., H. Jelinek und I. Steurer (1993).

Zusammenhang zwischen mikrobieller Flora, Parodontalstatus und ph-Wert der Zahnoberfläche bei Katzen.  
Der praktische Tierarzt 9: 824-826.

Zetner, K., G. Pum, W. D. Rausch, X. H. Rausch-Fan, S. T. Hung und R. Moldizio (2002).

Professionelle Zahnreinigung und Clindamycin - Wie reagieren Parodontalindizes, Sulcusflüssigkeit, PMN-Elastase, PGE2 und LTB4 nach 8-wöchiger Therapie mittels elektrischer Zahnbürste.  
Praktischer Tierarzt 83(3): 226-237.

Zhao, W. H., N. Asano, Z. Q. Hu und T. Schimamura (2003).

Restoration of antibacterial activity of beta-lactams by epigallocatechin gallate against beta-lactamase-producing species depending on location of beta-lactamase.  
J Pharm Pharmacol 55(6): 735-740.

## **K Danksagung**

Mein ausdrücklicher und herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. W.A. Rambeck für die Überlassung dieses interessanten Themas. Ich danke ihm für sein Vertrauen und seine stets hilfsbereite und hervorragende Betreuung als Doktorvater.

Herrn Dr. Ulrich Wehr bin ich zu besonderem Dank verpflichtet für die jederzeit gewährte wissenschaftliche und freundliche Unterstützung bei der vorliegenden Arbeit.

Besonders danke ich auch Frau Dr. Britta Dobenecker für die Unterstützung der Durchführung der Fütterungsstudie und ihre wertvollen Ratschläge. Ein großer Dank gilt auch den Mitarbeitern in der Außenstelle im OWF. Besonders Frau Stadler, Gabi, Nadja, Adrian, Kim und Uli danke ich für die tatkräftige Unterstützung.

Ein besonders herzliches Dankeschön gilt meiner Mitdoktorantin Sonja Gorrissen, die mit mir Arbeit, Freud und Leid während der Fütterungsstudie, den Laborarbeiten und der Erstellung des schriftlichen Teils durchlebte. Ohne sie wäre ein so schnelles Fertigstellen dieser Arbeit nicht möglich gewesen. Für die Einarbeitung in das Thema und die jederzeit gewährte Unterstützung, Hilfe und Freundschaft möchte ich mich besonders bedanken.

Danken möchte ich auch allen anderen Mitdoktorantinnen der Tierernährung, die mich unterstützt haben.

Für die verständnisvolle Betreuung bei der Laborarbeit möchte ich mich vor allem bei Frau Wetzel, Herrn Hesselbach und Frau Kleiner bedanken.

Ein herzliches Dankeschön geht auch an Frau Dr. Dagmar Kahlau für die Bereitstellung des Labors am LGL (Oberschleißheim) zur Erstellung des Bakteriologieteils dieser Arbeit. Ihr und den Mitarbeitern des LGL, vor allem auch Hannelore Gliedl, Jasmin Fräbldorf und Wolfgang Schmidt, möchte ich für die Einarbeitung ins Labor, die Ratschläge und die Unterstützung danken.

Ein großer Dank gilt auch dem Klinikum Rechts der Isar, besonders Herrn Prof. Dr. W. Erhard, Frau Dr. Julia Hinke und Johanna Ebner danke ich für die Durchführung der Narkosen und die Bereitstellung der dafür benötigten Mittel, wodurch ein reibungsloser und für die Katzen risikoarmer Ablauf der Anästhesien stattfinden konnte.

Für den Rat zur statistischen Auswertung bedanke ich mich bei Prof. Dr. Osterkorn.

Für die Bereitstellung des Labors zur Auswertung der Blutproben und für die Bestimmung der Leber-, Nieren- und Fruktosaminwerte danke ich Frau Prof. K. Hartmann und den Mitarbeitern des Labors der I. Medizinischen Tierklinik.

Bei meinen Eltern möchte ich mich von ganzem Herzen bedanken, dass sie mich bis heute in allen Lebenslagen unterstützt und gefördert haben. Ich danke ihnen, meiner Schwester Franka mit Marco für ihre andauernde geistige und moralische Unterstützung sowie für ihre Hilfe bei der Korrektur dieser Arbeit. Besonders herzlich danken möchte ich auch meinem Freund Dr. Nicolas Blanck, der sich immer Zeit für meine Probleme genommen hat und mir stets wertvolle Ratschläge für die Erstellung dieser Arbeit erteilt hat.

Wir danken DSM Nutritional Products für die freundliche Unterstützung.

## **L Lebenslauf**

Name: Katrin Elsbett  
Geburtsdatum: 5. November 1976  
Geburtsort: Schwabach  
Vater: Günter Elsbett, Geschäftsführer  
Mutter: Ulrike Elsbett, Zahnärztin  
Geschwister: Franka Elsbett, Diplom-Betriebswirtin

### **Schulische Laufbahn**

1983 - 1987 Grundschole Hilpoltstein  
1987 - 1996 Gymnasium Hilpoltstein  
28. Juni 1996 Zeugnis der Allgemeinen Hochschulreife

### **Akademische Laufbahn**

Sept. 1996 – Sept. 1997 Studium der Rechtswissenschaften an der  
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen  
Sept. 1997 – Feb. 2003 Studium der Veterinärmedizin an der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
18. März 2003 Approbation als Tierärztin  
April 2003 – April 2004 Dissertation am Institut für Tierernährung der  
Ludwig-Maximilians-Universität München