

Aus der Poliklinik für Parodontologie und Zahnerhaltung
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Die antimikrobielle Wirkung der photodynamischen Therapie auf parodontopathogene Bakterien und Pilze der Mundhöhle:
eine In-vitro-Studie

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Joud Ahmarani
aus Aleppo

Mainz, 2023

Tag der Promotion:

26.05.2023

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	IV
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	VI
1 Einleitung / Ziel der Dissertation	1
1.1 Die Karies	1
1.1.1 Ätiologie der Karies	1
1.2 Die Parodontitis.....	1
1.2.1 Ätiologie der Parodontitis	2
1.2.2 Parodontitis-Therapie	5
1.2.3 aPDT im Rahmen der adjuvanten Parodontitistherapie	9
1.3 Ziel der vorliegenden Arbeit.....	11
2 Der aktuelle Stand der Forschung zur aPDT	12
3 Material und Methoden.....	16
3.1 Eingesetzte Mikroorganismen	16
3.2 Vorbereitung der Keimsuspension.....	16
3.3 Testgerät.....	16
3.3 Nährmedien.....	20
3.4 Inkubation der Arbeitskulturen.....	20
3.5 Sicherheitsvorkehrungen.....	20
3.6 Versuchsablauf	21
3.7 Die Testgruppen.....	22
3.8 Kolonien	23
3.9 Statistische Auswertung	24
4 Ergebnisse	25
4.1 <i>S. aureus</i>	25
4.2 <i>S. mutans</i>	28
4.3 <i>B. fragilis</i>	30
4.4 <i>A. actinomycetemcomitans</i>	33
4.5 <i>C. albicans</i>	36
5 Diskussion.....	39
5.1 <i>S. aureus</i>	40
5.2 <i>S. mutans</i>	41
5.3 <i>B. fragilis</i>	42
5.4 <i>A. actinomycetemcomitans</i>	43

5.5	<i>C. albicans</i>	45
6	Zusammenfassung.....	48
7	Literaturverzeichnis	50
8	Danksagung	56
9	Tabellarischer Lebenslauf	57

Abkürzungsverzeichnis

A. actinomycetemcomitans: Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Abb: Abbildung

AMR: Antimikrobielle Resistenzen

aPDT: Antibakterielle photodynamische Therapie

B. fragilis: Bacteroides fragilis

BOP: Bleeding on probing

C. albicans: Candida albicans

CAL: clinical attachment level

CHX: Chlorhexidin

GBD: Global Burden of Disease

h-ALA: 5-aminolevulinic acid hexyl-ester

HME: hot melt Extrusion

KbE: Koloniebildende Einheiten

LAD: Lichtaktivierte Desinfektion

LED: Lichtemittierende Diode

LLLT: low-level-Laser Therapy

MB: methylene blau

MRE: Multiresistente Erreger

MRSA: Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*

NSPH: Unspezifische Plaque-Hypothese

PDT: Photodynamische Therapie

PS: Photosensitizer

S. aureus: Staphylococcus aureus

S. mutans: Streptococcus mutans

SI: Subgingivale Instrumentierung

SPH: Spezifische Plaque-Hypothese

SRP: Scaling und Wurzelglättung

TST: Taschen Sondierungstiefe

TMP: porphine tetra-tosylate

v.a.: vor allem

VRE: Vancomycin-resistente *Enterococcus faecalis* und *faecium*

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Parodontalerkrankungen bei jüngeren Senioren (5. Deutsche Mundgesundheitsstudie - DMS V).....	2
Abbildung 2: Prognostizierter parodontaler Behandlungsbedarf durch den demografischen Wandel (DMS V).....	2
Abbildung 3: Die polymikrobielle Zusammenwirkung und Dysbiose bei anfälligen Wirten modifiziert nach Hajishengallis (Hajishengallis, 2014).....	4
Abbildung 4: Biologisch plausible Mechanismen, die Parodontitis mit systemischen Entzündungen und Erkrankungen in Verbindung bringen, modifiziert nach Hajishengallis (Hajishengallis, 2015).....	5
Abbildung 5: Schematische Darstellung der Vorgänge, die im Rahmen der photodynamischen Reaktion auftreten. (Braun, 2010).....	8
Abbildung 6: Typ-I- und Typ-II-Reaktionen in der photodynamischen Therapie modifiziert (nach Soukos and Goodson, 2011). PS: Photosensitizer ¹ PS*: Photosensitizer im angeregten Zustand; ³ PS*: Photosensitizer im Triplett-Zustand; ³ O ₂ : Grundzustand Triplett; ¹ O ₂ : angeregter Singulett-Sauerstoff.....	9
Abbildung 7: FlashMax [®] P7.....	17
Abbildung 8: QroxB2-Spritze.....	18
Abbildung 9: Eppendorf-Gefäß.....	19
Abbildung 10: Blunt-Tip.....	19
Abbildung 11: 48-Well Mikrotiterplatte.....	21
Abbildung 12: LAD-Lichtaktivierung mittels der Einwegansätze „Blunt-Tip“ mit einer Distanz von ca. 7,5 mm zur Oberfläche der Bakteriensuspension in der 48-Well Mikrotiterplatte.....	22
Abbildung 13 a-c: a) Bakterienzahl von <i>S. aureus</i> in Log ₁₀ KBE/ml nach den unterschiedlichen Behandlungen.....	26
Abbildung 14: Besiedelung der Agarplatte mit <i>S. aureus</i> . Unten Kontrollgruppe, oben links Behandlungsgruppe (PS+30sLAD) und oben rechts Behandlungsgruppe (PS+60sLAD).....	27
Abbildung 15 a-c: a) Bakterienzahl von <i>S. mutans</i> in Log ₁₀ KBE/ml nach den unterschiedlichen Behandlungen.....	28
Abbildung 16: Besiedelung der Agarplatte mit <i>S. mutans</i> und Schafblut nach Behandlung mit Photosensitizer und Licht für 30s.....	30
Abbildung 17 a-c: a) Bakterienzahl von <i>B. fragilis</i> in Log ₁₀ KBE/ml nach den unterschiedlichen Behandlungen.....	30
Abbildung 18: Besiedelung der Agarplatte mit <i>B. fragilis</i> nach Behandlung mit Licht für 30s.....	32
Abbildung 19 a-c: a) Bakterienzahl von <i>A. actinomycetemcomitans</i> in Log ₁₀ KBE/ml nach den unterschiedlichen Behandlungen.....	34
Abbildung 20: Besiedelung der Agarplatte mit <i>A. actinomycetemcomitans</i> nach Behandlung mit Photosensitizer und Licht für 60s.....	35
Abbildung 21 a-c: a) Bakterienzahl von <i>C. albicans</i> in Log ₁₀ KBE/ml nach den unterschiedlichen Behandlungen.....	37
Abbildung 22: Besiedelung der Agarplatte mit <i>C. albicans</i> nach Behandlung mit Photosensitizer und Licht für 60s.....	38

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kurzfassung über verschiedene Systeme, Photosensitizer und verwendete Wellenlängen (erweitert nach Hopp & Biffar).....	12
--	----

1 Einleitung / Ziel der Dissertation

1.1 Die Karies

Karies gilt als die am weitesten verbreitete Erkrankung des Menschen und betrifft 80–90 % der Weltbevölkerung (Petersen, 2005). Tatsächlich ergab der Bericht der Global Burden of Disease (GBD) im Jahre 2015, dass die unbehandelte Karies bei bleibenden Zähnen die häufigste Krankheit der Menschen weltweit darstellt (Kassebaum et al., 2015).

Bei Kindern ist Karies ungefähr fünf Mal so häufig wie Asthma und sieben Mal so häufig wie Heuschnupfen vertreten (Benjamin, 2010).

1.1.1 Ätiologie der Karies

Bereits 1890 wurde die Rolle von Mikroben (chemoparasitäre Theorie nach Miller) bei der Entwicklung von Kariesläsionen vorgestellt (Ring, 2002). Am Ende des 19. Jahrhunderts wurde propagiert, dass Karies durch die Akkumulation von unspezifischen Bakterien im Zahnbelag verursacht wird (Black, 1981). Bei dieser unspezifischen Plaque-Hypothese (NSPH) war die Plaquemenge ausschlaggebend für die Pathogenität, ohne Unterscheidung der bakteriellen Virulenz (Rosier et al., 2014). Anfang 1976 stellte Loesche die spezifische Plaque-Hypothese (SPH) vor. Seitdem galt *S. mutans* für Jahrzehnte als Hauptverursacher der Krankheit (Loesche et al., 1975) und wurde dementsprechend für die meisten diagnostischen, präventiven und therapeutischen Strategien genutzt (Plonka et al., 2012, Kt et al., 2013, Islam et al., 2007).

Nach den letzten Studien wird *S. mutans* nicht als einziger Verursacher von Karies angesehen und die Beziehung zwischen *S. mutans* und Karies wird eher assoziativ als ursächlich angesehen (Beighton, 2005).

1.2 Die Parodontitis

Die Parodontitis ist eine entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates. Obwohl die schwere und milde Parodontitis bei den jüngeren Senioren (65- bis 74-jährige)

zurückgegangen ist, ist dennoch jeder zweite jüngere Senior von einer Parodontitis betroffen (Abb. 1).

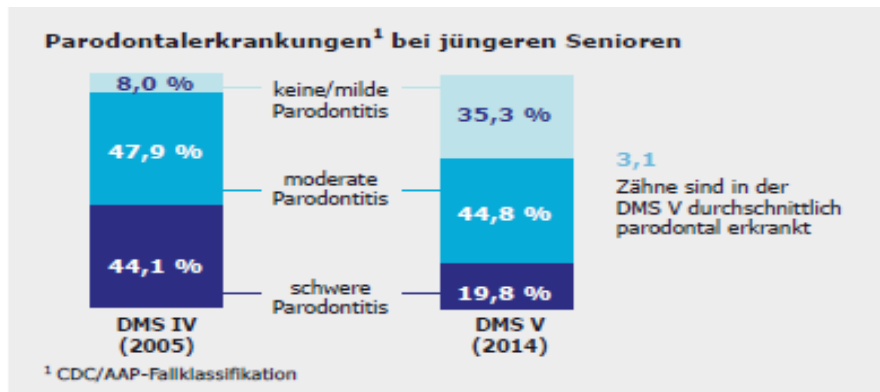


Abbildung 1: Parodontalerkrankungen bei jüngeren Senioren (5. Deutsche Mundgesundheitsstudie - DMS V¹).

Durch den demografischen Wandel in der deutschen Bevölkerung ist eine Zunahme von parodontalen Erkrankungen und deren Behandlungsbedarf in den nächsten Jahren absehbar (DMS V², Abb. 2).

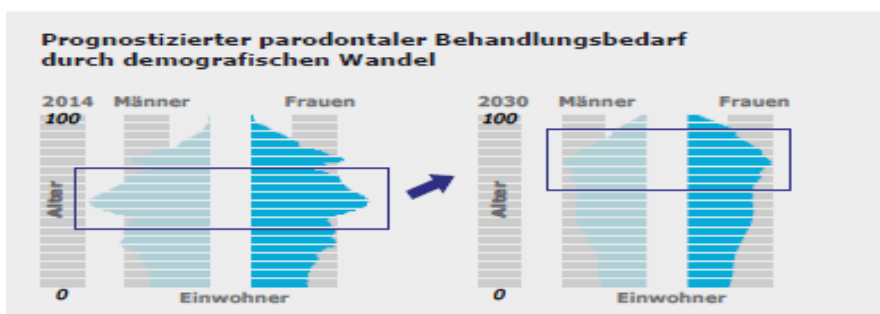


Abbildung 2: Prognostizierter parodontaler Behandlungsbedarf durch den demografischen Wandel (DMS V³).

1.2.1 Ätiologie der Parodontitis

Schon seit den 1960ern ist ein Zusammenhang zwischen der Plaqueakkumulation und der Entstehung von Gingivitis und Parodontitis bekannt (Löe et al., 1965). Laut Studien erhöhen Faktoren, wie bspw. Rauchen (Nociti et al., 2015) sowie Diabetes (Kowall et al., 2015), die Prävalenz und Inzidenz einer Parodontitis und beschleuni-

¹ DMS V: https://www.bzaek.de/fileadmin/PDFs/dms/Zusammenfassung_DMS_V.pdf

² DMS V: https://www.bzaek.de/fileadmin/PDFs/dms/Zusammenfassung_DMS_V.pdf

³ DMS V: https://www.bzaek.de/fileadmin/PDFs/dms/Zusammenfassung_DMS_V.pdf

gen ihre Progression. Andere Faktoren, wie mentaler Stress (Sheiham and Nicolau, 2005) und genetische Vererbungen, wie das Papillon-Lefèvre-Syndrom oder das Ehlers-Danlos-Syndrom, begünstigen die Entstehung von Parodontitis (Vieira and Albandar, 2014).

Laut *Hajishengallis* sind immunregulatorische Störungen sowie mikrobielle Faktoren, wie Keystone-Pathogene, zuständig für den Homöostase-Zusammenbruch zwischen den Bakterien der Mundhöhle und dem empfänglichen Wirt, was zu einer Umwandlung der Mundflora von vor allem aerob positiven Bakterien zu vor allem anaerob negativen Bakterien führt (Hajishengallis, 2014). Diese dysbiotische Zunahme von Bakterien dieser Art gilt als die Hauptursache von Parodontitis und nicht die Menge von verschiedenen Bakterien im Biofilm (Hajishengallis, 2015; Abb.3).

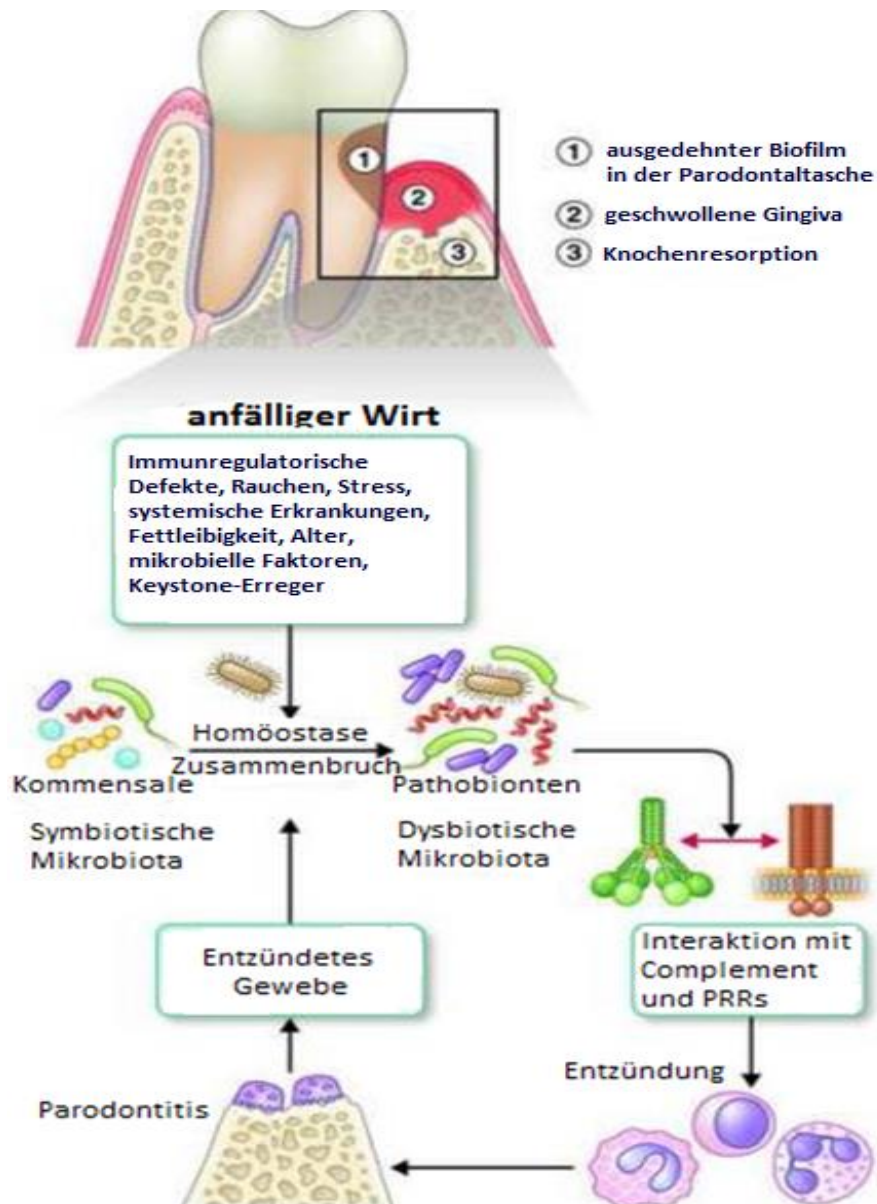


Abbildung 3: Die polymikrobielle Zusammenwirkung und Dysbiose bei anfälligen Wirten modifiziert nach Hajishengallis (Hajishengallis, 2014)

Weiterhin konnte durch aktuelle Forschungsergebnisse nachgewiesen werden, welche wichtige Rolle die Parodontitis bei der Entstehung von systemischen Entzündungen und Erkrankungen spielt (Hajishengallis, 2015; Abb. 4).

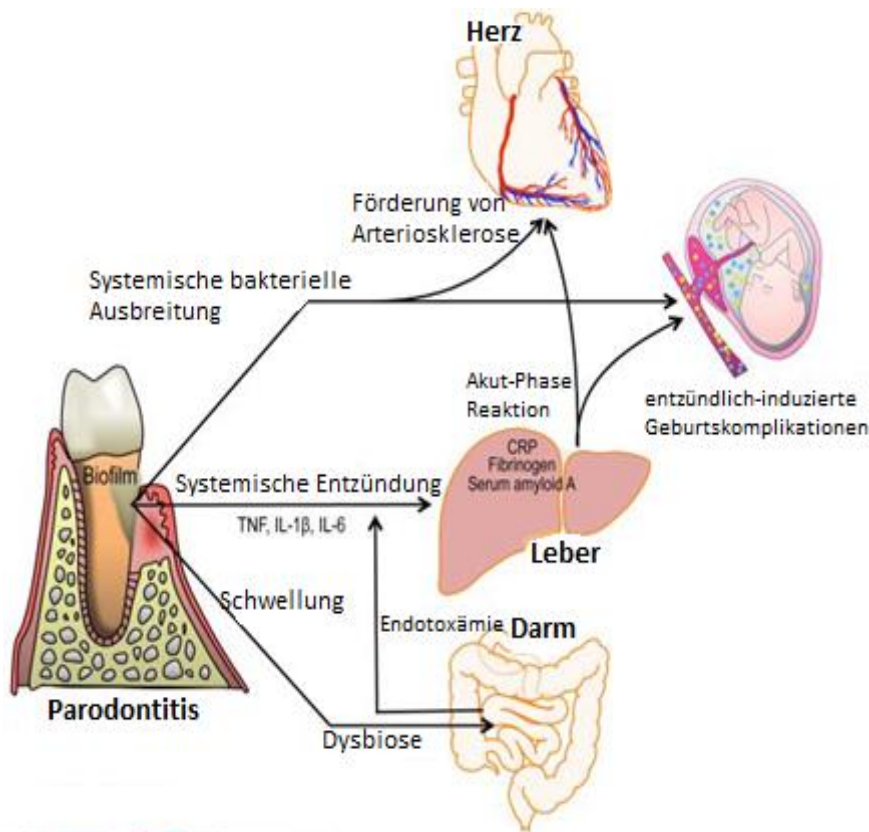


Abbildung 4: Biologisch plausible Mechanismen, die Parodontitis mit systemischen Entzündungen und Erkrankungen in Verbindung bringen, modifiziert nach *Hajishengallis* (Hajishengallis, 2015)

Möglicherweise spielt auch *Candida albicans* eine Rolle bei der Immunevasion der Plaque-Mikroorganismen und bei der Adhäsion des parodontalen Gewebes. So wurde *Candida albicans* typischerweise auf den äußeren Schichten der Plaque und tief in den parodontalen Geweben gefunden (Järvensivu et al., 2004). In einer anderen Studie wurde festgestellt, dass sich *C. albicans* in 50 % der Biofilmpfunden aus schweren Parodontitisstellen befand, jedoch nur bei 15 % der Proben aus gesunden parodontalen Geweben (Canabarro et al., 2013).

1.2.2 Parodontitis-Therapie

Zur parodontalen Therapie gehören die Reduzierung und Beseitigung von Plaque, Rötungen, Attachmentverlust, gingivalen Taschen sowie Blutungen. Je nach Schweregrad wird Parodontitis stufenweise behandelt. Nach Aufklärung des Patienten über die Gründe seiner Erkrankung, Risikofaktoren und Therapiealternativen erfolgt die

erste Therapiestufe. Diese erfolgt bei allen Parodontitispatienten unabhängig vom Stadium und umfasst laut S3-Leitlinie⁴:

- Kontrolle des supragingivalen Biofilms
- Motivation zur Verbesserung der Mundhygiene
- Individualisierte Mundhygieneinstruktion
- Herstellung der Mundhygienefähigkeit
- professionelle mechanische Plaquerreduktion (PMPR)
- Kontrolle der Risikofaktoren.

Die Ergebnisse dieser Therapie werden regelmäßig reevaluiert.

Die zweite Therapiestufe, auch ursachenbezogene Therapie genannt, strebt die Reduktion des subgingivalen Biofilms und Zahnsteins an und erfolgt durch mechanische Instrumentierung der Wurzeloberflächen. Hierbei können ggf. auch adjuvante Therapiemaßnahmen zum Einsatz kommen. Bei den adjuvanten Maßnahmen werden folgende unterschieden:

1. adjuvante physikalische oder chemische Mittel
2. immunmodulatorische Mittel
3. subgingival lokal applizierte antimikrobielle Mittel
4. adjuvante systemische Antibiotika

Zu den adjuvanten physikalischen Mitteln bei der subgingivalen Instrumentierung gehören u.a. die Applikation von Lasern und der antimikrobiellen photodynamischen Therapie (aPDT). Zu den immunmodulatorischen Mitteln zählen lokal applizierte Mittel wie Statin- und Bisphosphonat Gele. Immunmodulatorische Mittel wie Probiotika, subantimikrobielles Doxycyclin, Omega-3-Fettsäuren und Bisphosphonate werden systemisch verwendet. Bei den subgingival lokal applizierbaren antimikrobiellen Mitteln unterscheiden wir zwischen topischen Antibiotika, wie Ligosan, Arestin, Elyzol und Antiseptika, wie Periochip, CHX-Gel, CHX-Mundspülung (da Costa et al., 2017). Die Anwendung von lokalen Antibiotika führt zur Verringerung der Taschentiefe um durchschnittlich 0,4 mm und einer Zunahme des klinischen Attachmentverlusts (CAL) von durchschnittlich 0,3 mm

⁴ https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/083-043l_S3_Behandlung-von-Parodontitis-Stadium-I-III_2021-02_2.pdf

(Jepsen and Jepsen, 2016). Das letzte adjuvante Mittel, das nur bei bestimmten Patientengruppen erwogen wird, ist die systemische Antibiotikagabe.

Werden die Ziele der zweiten Therapiestufe nicht erreicht (Taschentiefen > 4 mm mit BOP „Bleeding on probing“ oder tiefe parodontale Taschen \geq 6 mm), erfolgt die dritte Therapiestufe. Ziel dieser Therapiestufe ist es, direkten Zugang zu tiefen parodontalen Taschen zu erzielen, die evt. noch mit Knochentaschen und Furkationsbefall assoziiert sind. Dieser Therapieabschnitt kann folgende Interventionen umfassen:

- wiederholte subgingivale Instrumentierung mit/ohne adjuvante Therapie
- Parodontalchirurgie: Zugangslappen
- resektive Parodontalchirurgie
- regenerative Parodontalchirurgie.

Nach wie vor ist die subgingivale Instrumentierung der Goldstandard für die Behandlung der Parodontitis (Dentino et al., 2013). Es lässt sich feststellen, dass die subgingivale Instrumentierung eine äußerst effiziente Behandlungsmethode zur Reduktion der Sondierungstiefen und Entzündungszeichen (Rötung, Blutung) darstellt (Heitz-Mayfield and Lang, 2013). Dies konnten auch *Suvan et al.* belegen. Die Studie zeigte eine durchschnittliche Reduktion der Taschensondierungstiefe (TST) von 1,7 mm nach 6/8 Monaten, einen mittleren Anteil an geschlossenen Taschen von 74 % und eine durchschnittliche Reduktion des BOP um 63 %. Tiefere Taschen (> 6 mm) zeigten eine größere mittlere Reduktion der Taschensondierungstiefe (TST) von 2,6 mm. Der Einsatz von Handinstrumenten konnte hierbei ähnlich positive klinische Ergebnisse aufweisen wie die maschinellen (Schall-/Ultraschall-) Instrumente (Marotti et al., 2013, Suvan et al., 2020)

Antibakterielle photodynamische Therapie (aPDT)

Schon zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurde der Begriff der „photodynamischen Reaktion“ von dem deutschen Professor Hermann von Tappeiner erwähnt und weiterentwickelt. Für die photodynamische Therapie werden drei Anteile benötigt, um eine Wirkung zu erzielen (Konopka and Goslinski, 2007):

1. ein Photosensitizer (lichtaktivierbarer Stoff)
2. Energie (in Form von Licht)

3. Sauerstoff

Bei der photodynamischen Therapie wird der Photosensitizer auf die gewünschte Stelle topisch appliziert und dann mit Licht einer spezifischen Wellenlänge aktiviert. Durch das Laserlicht oder das blaue Licht verändert sich der Photosensitizer, so dass er vom niederenergetischen Grundzustand zum angeregten Singulett-Zustand übergeht. Anschließend kann der Photosensitizer, unter der Emission von Fluoreszenz, wieder in den Grundzustand zerfallen oder einen Übergang zu einem energiereicheren Triplett-Zustand durchlaufen (Abb. 5).

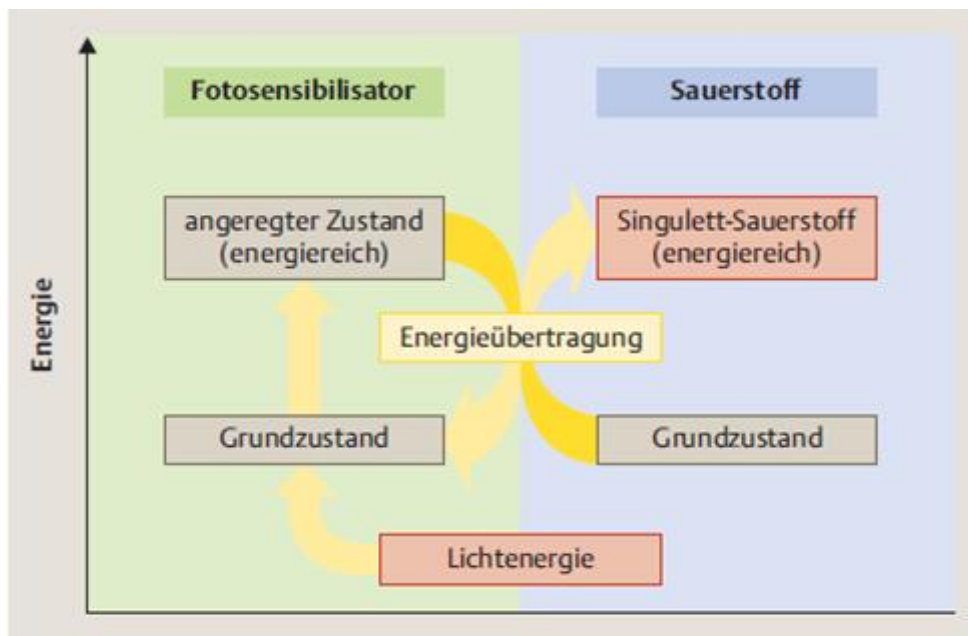


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Vorgänge, die im Rahmen der photodynamischen Reaktion auftreten. (Braun, 2010)

Der Triplett-Zustand kann mit endogenem Sauerstoff wirken, um Singulett-Sauerstoff und andere radikale Arten zu produzieren. Diese führen zu einer schnellen Zerstörung der Mikroorganismen, Bestandteile der Zellmembran, der Zellorganellen sowie des Zellkerns. Diese Nutzung von Sauerstoff in der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies ist bekannt als photochemischer Sauerstoffverbrauch. Der Photosensitizer im Triplett-Zustand reagiert mit Biomolekülen nach zwei Mechanismen, die im Folgenden erklärt werden:

Bei der **Typ-I-Reaktion** werden freie Radikale gebildet. Diese Radikale reagieren schnell mit Sauerstoff, was zur Produktion von hochreaktiven Sauerstoffspezies (Superoxid, Hydroxyl Radikale, Wasserstoffperoxid) führt. Die **Typ-II-Reaktion** überträgt

die Energie des Triplett-Zustandes des Photosensitizers in den Grundzustand molekularen Sauerstoffs (Triplett), um ein Singulett im angeregten Zustand zu erzeugen (Abb. 6).

Die beiden Reaktionen zeigen die Mechanismen von Gewebe- und Zellschädigung, die sowohl von der Sauerstoffspannung, als auch von der Konzentration des Photosensitizers abhängig sind (Soukos and Goodson, 2011). Die PDT erzeugt zytotoxische Wirkungen auf subzelluläre Organellen und Moleküle. Ihre Wirkung ist auf Mitochondrien, Lysosomen, Zellmembranen und Kerne von Tumorzellen gerichtet. Der Photosensitizer induziert Apoptose in Mitochondrien, Nekrose in Lysosomen und Zellmembranen (Raghavendra et al., 2009).

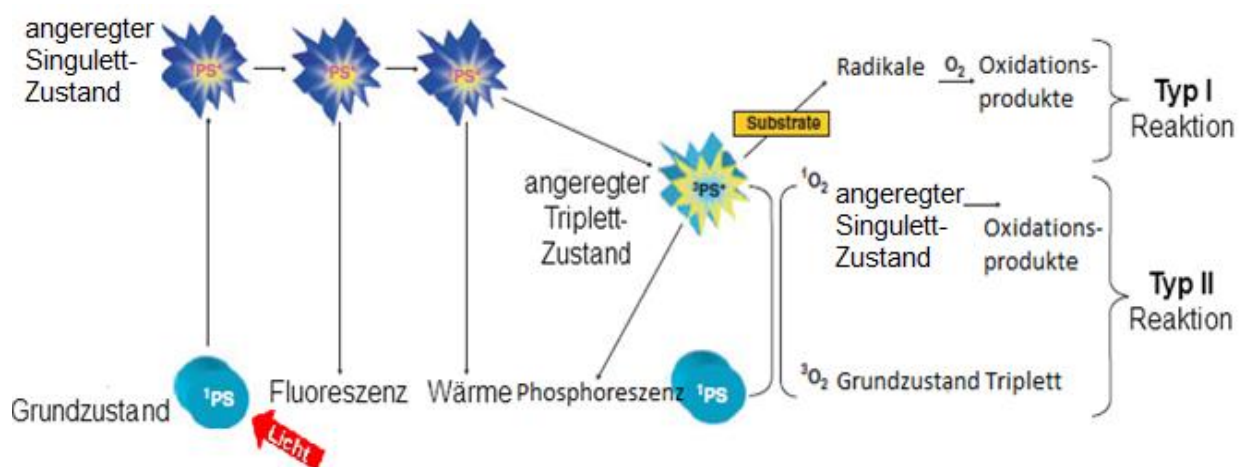


Abbildung 6: Typ-I- und Typ-II-Reaktionen in der photodynamischen Therapie (Soukos and Goodson, 2011). PS: Photosensitizer $^1PS^*$: Photosensitizer im angeregten Zustand; $^3PS^*$: Photosensitizer im Triplett-Zustand; 3O_2 : Grundzustand Triplett; 1O_2 : angeregter Singulett-Sauerstoff

1.2.3 aPDT im Rahmen der adjuvanten Parodontistherapie

Die aPDT wurde in den letzten Jahren in der Zahnmedizin im Rahmen der Parodontistherapie und der endodontischen Behandlung eingesetzt. Wie oben bereits erwähnt handelt es sich bei der Parodontitis um eine Biofilm-induzierte entzündliche Erkrankung. Ein effektiver Ansatz der Parodontaltherapie ist die Veränderung der lokalen Umgebung, um das Wachstum der parodontalen Krankheitserreger zu unterdrücken. Die Mikroorganismen in der Gelatine-Matrix (Glycocalyx) sind für Antibiotika weniger zugänglich, so dass eine Verwendung von antimikrobiellen Substanzen zur

Behandlung von Parodontitis ohne mechanische Desintegration des Biofilms als Behandlungsfehler angesehen werden muss (Raghavendra et al., 2009).

Da der parodontale Behandlungsbedarf sich in steigender Tendenz befindet, werden Antibiotika oftmals bei der adjuvanten Parodontitistherapie eingesetzt (Feres et al., 2001). Die Anwendung von Antibiotika sollte jedoch aufgrund von Resistenzbildung auf die komplizierten Fälle beschränkt werden (Sanz et al., 2020).

Antimikrobielle Resistenzen (AMR) bzw. multiresistente Erreger (MRE) waren allein 2019 für weltweit 1,27 Millionen Todesfälle direkt verantwortlich. Bei weiteren 3,68 Millionen Menschen wurden AMR und MRE des Weiteren assoziiert (Murray et al., 2022).

MRE sind bakterielle Mikroorganismen, gegen die viele Antibiotika nicht mehr wirksam sind. Ein Viertel der Mikroorganismen belaufen sich auf *S. aureus* und *Escherichia coli* (Murray et al., 2022). Im grampositiven Spektrum sind der Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) und Vancomycin-resistente *Enterococcus faecalis* und *faecium* (VRE) die häufigsten Vertreter der MRE. Bei den odontogenen Infektionen in Deutschland ist die *Staphylococcus* Spezies am zweithäufigsten nach dem isolierten Erreger *Streptococcus* Spezies vorhanden (Meinen et al., 2021).

Laut der aktuellen S3-Leitlinie⁵ sollte die adjuvante systemische Antibiotikagabe im Rahmen einer Parodontitistherapie nicht routinemäßig eingesetzt werden, sondern nur für bestimmte Patientengruppen mit nachgewiesener rascher Progressionsrate, wie z.B. bei generalisierter Parodontitis Stadium III/IV bei jungen Erwachsenen.

Die Resistenzbildung ist durch die Verwendung von aPDT minimiert (Raghavendra et al., 2009). Polysaccharide in der extrazellulären Matrix des oralen Biofilms reagieren hochempfindlich auf Singulett-Sauerstoff und sind anfällig für Lichtschäden. aPDT wirkt sogar gegen antibiotikaresistente Bakterien (Wood et al., 1999). Die von Bakterien produzierten antioxidativen Enzyme können vor einigen Sauerstoffradikalen schützen, allerdings nicht vor Singulett-Sauerstoff (Wainwright and Crossley, 2002). Die photodynamische antimikrobielle Therapie könnte eine ideale Ergänzung zur konventionellen subgingivalen Instrumentierung darstellen.

Allerdings besagt die aktuelle S3-Leitlinie zur Behandlung von Parodontitis Stadium I-III, dass die adjuvante antimikrobielle photodynamische Therapie zusätzlich zur

⁵ https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/083-043l_S3_Behandlung-von-Parodontitis-Stadium-I-III_2021-02_2.pdf

subgingivalen Instrumentierung bei Patienten mit Parodontitis nicht angewendet werden sollte, da dadurch keine Vorteile sowie keine signifikante Reduktion der Entzündungsparameter beobachtet wurden. Andererseits wurden bei den Studien zu aPDT keine Nebenwirkungen festgestellt. Die Leitliniengruppe sieht weiterhin einen Forschungsbedarf in diesem Bereich, um das Potenzial einer adjuvanten aPDT in der Parodontaltherapie durch klinische Studien systematisch zu evaluieren⁶.

1.3 Ziel der vorliegenden Arbeit

In der vorliegenden In-vitro-Studie wurde die Wirkung der antibakteriellen photodynamischen Therapie mittels blauer LED-Lampe (FlashMax® P7) und eines neuen natürlichen Photosensitizers (QroxB2) auf aerobe und anaerobe Bakterien sowie *Candida albicans* getestet.

Folgende vier Fragestellungen ergaben sich zu Beginn der Studie und sollten durch die vorliegende Arbeit beantwortet werden:

1. Welche Wirkung zeigt die antimikrobielle photodynamische Therapie auf die parodontalpathogenen Bakterienspezies *A. actinomycetemcomitans* und *S. aureus*?
2. Zeigt die aPDT eine effektive hemmende Wirkung auf *C. albicans*, *S. mutans* und *B. fragilis*?
3. Wie beeinflusst die alleinige Anwendung des Photosensitizers die Gesamtkeimzahl?
4. Welche Wirkung zeigt die alleinige Anwendung einer LED-Lampe?

⁶ https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/083-043l_S3_Behandlung-von-Parodontitis-Stadium-I-III_2021-02_2.pdf

2 Der aktuelle Stand der Forschung zur aPDT

Bereits 1876 wurde der erste Photosensitizer (Methylenblau) von dem Chemiker Heinrich Caro synthetisiert. Es gibt synthetische Photosensitizer, wie Methylenblau, Toluidinblau, Methylenderivate, Erythrosine und viele mehr und natürliche Photosensitizer, wie Curcumin, Riboflavin und Hypericin (Abrahamse and Hamblin, 2016).

Heutzutage existieren auf dem Dentalmarkt verschiedene Systeme und Photosensitizer:

Laser/LED Wellenlänge	Photosensitizer	System
LED 460 nm	Curcumin	Flashmax®P7, Flashmax®P3
LED 630 nm	Toluidinblau 0	Fotosan/Fotosan 630
Laser 635 nm	Toluidinblau 0	PACT Systeme
Laser 670 nm	Methylenblau	HELBO System, Periowave, Orcosmedical u.a.
Laser 810 nm	Methylenblauderivat	Photolase System
Laser 810 nm	Indocyaningrün	EmunDo, Periogreen

Tabelle 1: Kurzfassung über verschiedene Systeme, Photosensitizer und verwendete Wellenlängen (erweitert nach Hopp & Biffar⁷)

Zu der Wirksamkeit der aPDT im zahnmedizinischen Bereich mittels verschiedener PS liegen in der Literatur zahlreiche In-vitro- und In-vivo-Studien vor.

Der Fokus der vorliegenden Literaturrecherche beschränkt sich hierbei auf den Einsatz von aPDT mittels Curcumin als PS in In-vitro-Studien, insbesondere deren toxische Wirkung auf Bakterien.

Curcumin ist eher neu auf dem Gebiet der PDT, obwohl es seit Jahrhunderten als Gewürz und in der medizinischen Versorgung mit seiner antioxidativen, hypoglykämischen, entzündungshemmenden und krebshemmenden Wirkung bekannt ist

⁷ <https://epaper.zwp-online.info/epaper/2407/export-article/14>

(Ghosh et al., 2015). Curcumin ist ein sehr hydrophobes Molekül und erfordert eine Art Formulierungsvehikel, damit es als PS verwendet werden kann (Wikene et al., 2015) und durch blaues Licht aktiviert wird (Bernd, 2014). In der Zahnmedizin wird Curcumin am häufigsten als antimikrobieller PS angewendet, um orale Krankheitserreger abzutöten.

In-vitro-Studien zeigen, dass verschiedene parodontalpathogene Bakterien wie *A. actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis* durch die photodynamische Therapie mittels Curcumin PS supprimiert werden können (Najafi et al., 2016, Pan et al., 2020, Mahdi et al., 2015, Pourhajibagher et al., 2018a).

Andere Studien zeigen zudem die effiziente Wirkung von PDT mit Curcumin als PS auf *S. aureus* (Alves et al., 2021, Paolillo et al., 2021) und *C. albicans* (Daliri et al., 2019, Dovigo et al., 2013, Pellissari et al., 2016, Andrade et al., 2013, Rocha et al., 2020, Narayanan et al., 2020, Picco et al., 2019, Li et al., 2019, Dovigo et al., 2011).

Zur Wirkung der aPDT unter Anwendung von Curcumin als PS auf *S. mutans* liegen zahlreiche In-vitro-Studien vor (Paschoal et al., 2013, Tonon et al., 2015, Cusicanqui Méndez et al., 2018, Manoil et al., 2014, Lee et al., 2017). All diese Studien zeigten eine signifikante Reduktion von *S. mutans* bei Aktivierung von Curcumin mittels LED.

Auch die Effizienz von aPDT auf die Heilung von Stomatitis bei Rauchern, wurde mithilfe von Rose Bengal und Curcumin als PS untersucht. Die Ergebnisse waren dabei durchweg positiv (Labban et al., 2021).

Andererseits wurde in anderen Studien (Araújo et al., 2014, Lee et al., 2017) berichtet, dass die alleinige Anwendung von Curcumin ohne Licht auf Bakterien keine antimikrobielle Wirkung zeigt und andere PS, wie z.B. Methylblau (MB) und Toluidinblau Ortho (TBO) eine bessere antimikrobielle Wirkung auf Bakterien haben als Curcumin (Silva Teófilo et al., 2021, Soria-Lozano et al., 2015, Sampaio et al., 2020). Dagegen wurde in einer anderen Studie (Pourhajibagher et al., 2018b) genau das Gegenteil nachgewiesen. Somit liegen heterogene Forschungsergebnisse vor, die Curcumin sowohl positive als auch weniger wirkungsvolle Effekte nachsagen.

Zur Wirkung von Curcumin als PS auf extrahiert infizierte Wurzelzähne mit *E. faecalis* nach der chemo-mechanischen Desinfektion der Wurzelkanäle liegen zahlreiche Studien vor (Mozayeni et al., 2020, Oda et al., 2019, Rocha et al., 2021, Pourhajibagher et al., 2018b, Sampaio et al., 2020, Moradi et al., 2021). Alle Studien

zeigen, dass die adjuvante aPDT mittels Curcumin als PS bei der endodontischen Behandlung zu einer Bakterienreduktion von 99 % führte. Dagegen liegen kaum In-vivo-Studien vor, die die klinische antibakterielle Wirksamkeit von aPDT gegen *E. faecalis* belegen.

Eine Studie aus dem Bereich Photochemie und Photobiologie beschrieb die Anwendung und Herstellung eines oralen Präparates via Hot Melt Extrusion (HME), bei der eine gezielte Abgabe verschiedener Photosensitizer im anaeroben Milieu des Kolons verabreicht wurde, um eine Infektion mit Vancomycin-resistentem *E. faecalis* und *B. fragilis* zu vermeiden. HME ist ein Prozess bei der Medikamentenherstellung in der Pharmaindustrie, bei dem schlecht lösliche Medikamente in eine Polymermatrix überführt werden, um sie damit absorbierbarer über den Magen-Darmtrakt zu machen sowie Arzneimittel mit verzögerter Wirkstofffreigabe herzustellen. Die In-vitro-Studie erzielte eine Keimreduktion zwischen 4,67 und 7,73 \log_{10} -Stufen, zeigte aber nicht, ob diese Therapieform klinisch möglich ist (Cassidy et al., 2011).

Wainwright et al. diskutierten, wie die Ausleuchtung des Kolons mittels faseroptischer Geräte erfolgen kann, wie viel Fläche vom Dickdarm beleuchtet werden müsste, um eine ausreichende Konzentration des verfügbaren Sauerstoffes zu erhalten (Wainwright et al., 2011). Die Studie stellte fest, dass weiterer Forschungsbedarf bzgl. der letzten beschriebenen Aspekte sowie eine Optimierung der Selektivität der Photosensitizer für Bakterien gegenüber Epithelzellen des Kolons besteht.

In mehreren klinischen Studien und Metaanalysen befindet sich eine zurückhaltende Bewertung zur Anwendung der adjuvanten PDT bei der Parodontistherapie.

In einer klinischen Studie an 39 Patienten über die adjuvante PDT bei der Parodontistherapie zeigte sich, dass die adjuvante PDT zu limitierten nicht signifikanten Verbesserungen der klinischen Parameter BOP und CAL führte (Schär et al., 2020).

Eine aktuelle Metaanalyse konnte auch keine verbesserte klinische Wirkung auf den parodontalen Zustand im Vergleich zur alleinigen subgingivalen Instrumentierung zeigen (Trombelli et al., 2020).

Eine große Metanalyse diskutiert die Wirkung der adjuvanten aPDT im Rahmen der chirurgischen und nicht-chirurgischen Parodontitis- oder Periimplantitistherapie. Da-

bei wurden über 730 Artikel und 26 Studien ausgewertet, welche die Auswirkung der adjuvanten aPDT von verschiedenen Photosensitizer wie Toluidinblau 0, Phenothiazine Chloride und Indocyaningrün bei der Parodontitsbehandlung auf die Verbesserung des klinischen Attachmentlevels (CAL) und der Taschensondierungstiefen (TST) untersuchten.

Bei der Metaanalyse galten folgende Ausschlusskriterien:

1. Gruppen von unter 10 Patienten
2. eine follow-up Phase von unter 3 Monaten
3. nicht-randomisierte Studien.

In der Arbeit konnte gezeigt werden, dass die PDT im Vergleich zur konventionellen Parodontaltherapie keine klinische Verbesserung des CAL und der TST bei Parodontitis- und Periimplantitispatienten erzielte. Andererseits konnten minimal signifikante klinische Verbesserungen festgestellt werden. Die Arbeit kritisierte zudem die zu geringen Patientenzahlen bei den meisten Studien und dass es kein standardisiertes Behandlungsprotokoll bei der aPDT gibt (Chambrone et al., 2018).

3 Material und Methoden

3.1 Eingesetzte Mikroorganismen

Die für den Test benötigten Bakterien wurden vom Institut für Hygiene und Infektionsprävention der Universitätsmedizin Mainz zur Verfügung gestellt und kultiviert. Die Suspensionen wurden im Kühlschrank bei 5° C aufbewahrt. Für die Versuche wurden folgende aerobe und anaerobe Reinkulturen verwendet:

Aerobe Reinkulturen	Anaerobe Reinkulturen
<i>S. aureus</i> (ATCC 6538)	<i>A. actinomycetemcomitans</i> (ATCC 33384)
<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	<i>S. mutans</i> (ATCC 35688)
	<i>B. fragilis</i> (ATCC 25285)

3.2 Vorbereitung der Keimsuspension

Die Vorbereitungsschritte der Keimsuspension wurden von einer erfahrenen medizinisch-technischen Laborassistentin der Abteilung für Hygiene und Infektionsprävention der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt.

Vor jedem Versuch wurde die Keimsuspension verdünnt, sodass die Konzentration aller Testkeime 10^7 KbE/ml betrug.

3.3 Testgerät

Als Belichtungsquelle wurde die Flashmax[®] P7⁸ LAD (lichtaktivierte Desinfektion) (Abb. 7) der Firma CMS Dental (Dänemark) mit einer Wellenlänge von 460nm, einer Intensität von 7.500 mW/cm² und einem Gewicht von 120g verwendet.

Flashmax[®] P7 wird in der Parodontologie, der Implantologie, der Endodontie sowie bei Halitosis, Aphten und Pilzinfektionen eingesetzt. Außerdem wird es mit einer Intensität von 5.000 mW/cm² bei der Polymerisation von Kompositen verwendet.⁹

⁸ <https://cmsdental.com/en/products/flashmax-p7>

⁹ <https://cmsdental.com/en/products/flashmax-p7>

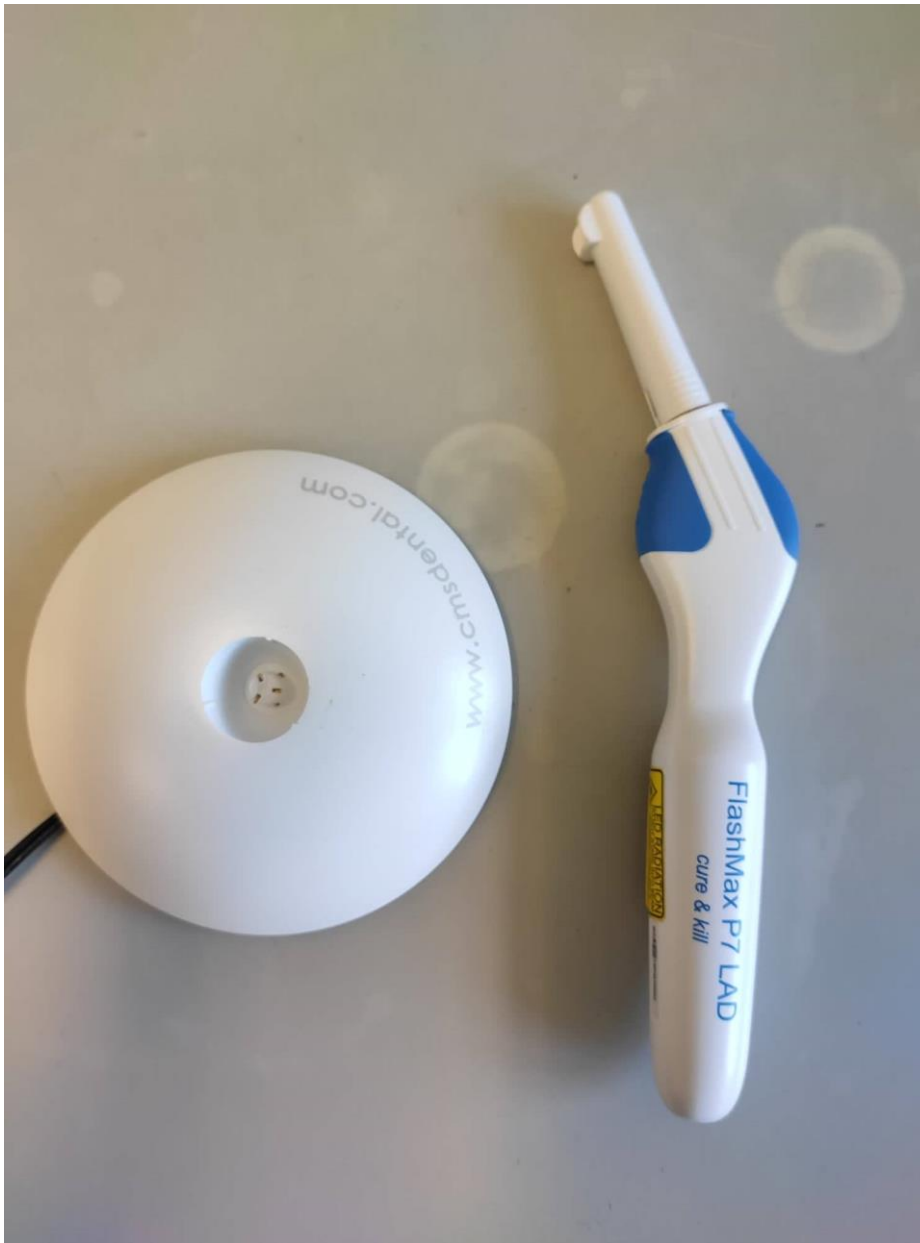


Abbildung 7: FlashMax® P7

Als Photosensitizer wurde die QroxB2-Spritze (Abb. 8) verwendet, die aus Vitamin B2, Curcuma und Peroxid besteht.¹⁰ Die Konzentration des Photosensitizers war aus den allgemein erhältlichen Produktbeschreibungen nicht ersichtlich.

Vor der Anwendung wurde der Farbstoff zusammen mit 1,5 ml Wasser mithilfe einer Mischkugel in die Spritze gegeben.

¹⁰ <https://www.loser.de/Catalog/Products/10007182>

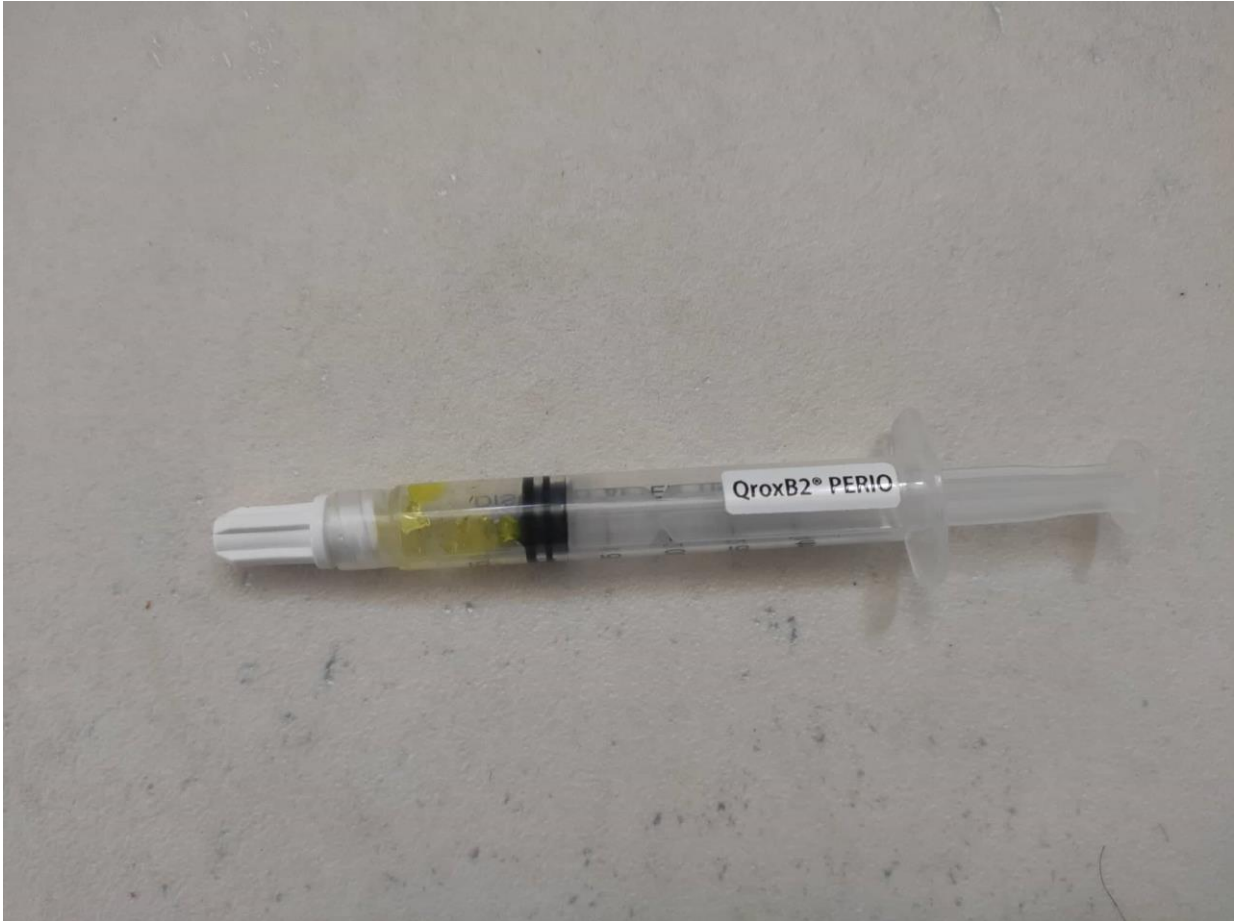


Abbildung 8: QroxB2-Spritze

Die Mischung wurde in ein Eppendorf-Gefäß¹¹ (Abb.9) abgefüllt, um eine Kontamination des Farbstoffes mit den Keimen zu vermeiden.

¹¹ Eppendorf SE (Hamburg)



Abbildung 9: Eppendorf-Gefäß

Die Lagerung des Farbstoffes erfolgte lichtgeschützt bei Temperaturen zwischen 5 und 25 Grad. Es wurde täglich eine neue Spritze verwendet.

Für die Aufsätze des Flashmax[®] P7 wurden sogenannte „Blunt-Tips“ (Abb. 10) mit einem Durchmesser von 8 mm benutzt, die nach jedem Versuchsdurchlauf entsorgt wurden.



Abbildung 10: Blunt-Tip

3.3 Nährmedien

Zur Koloniezahlbestimmung am Versuchsende wurden die Proben auf Petrischalen, auf denen sich Columbia-Agar befand, ausgestrichen. Columbia Agar enthält Schafblut¹². Das Mittel wurde vom Institut für Hygiene und Infektionsprävention der Universität Mainz zur Verfügung gestellt. Die Platten wurden bis zu ihrer Verwendung im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt.

3.4 Inkubation der Arbeitskulturen

Die Temperatur im Brutschrank für die Inkubation aller Arbeitskulturen lag bei 37°C. Zehn Petrischalen der anaeroben Keime wurden erst in einen anaeroben Kulturtopf¹³ eingelegt. Dazu wurden pro Topf drei anaerobe Gaserzeugungsbeutel¹⁴ gelegt. Laut Hersteller reicht ein Beutel für eine anaerobe Inkubation von bis zu vier Petrischalen.

3.5 Sicherheitsvorkehrungen

Die Durchführung der Versuche erfolgte im Labor auf einem desinfizierten Arbeitstisch. Der Arbeitstisch wurde dafür vor und nach dem Arbeiten gründlich mit terralin[®] protect¹⁵ gereinigt und desinfiziert.

Zur Handdesinfektion vor, während und nach den verschiedenen Arbeiten wurde Sterillium¹⁶ verwendet.

¹² Oxoid Deutschland GmbH (Wesel)

¹³ Anaerocult®, VWR International (Radnor, Pennsylvania, Vereinigte Staaten)

¹⁴ AnaeroGen, Oxoid Deutschland GmbH (Wesel)

¹⁵ Schülke & Mayr GmbH (Hamburg)

¹⁶ Bode Chemie (Hamburg)

3.6 Versuchsablauf

Es wurden bei jedem Testkeim und bei jeder Testgruppe 10 μ l der Keimsuspension 10⁷ KbE/ml pipettiert und dann in ein Loch der 48-Well Mikrotiterplatte¹⁷ verteilt (Abb. 11).

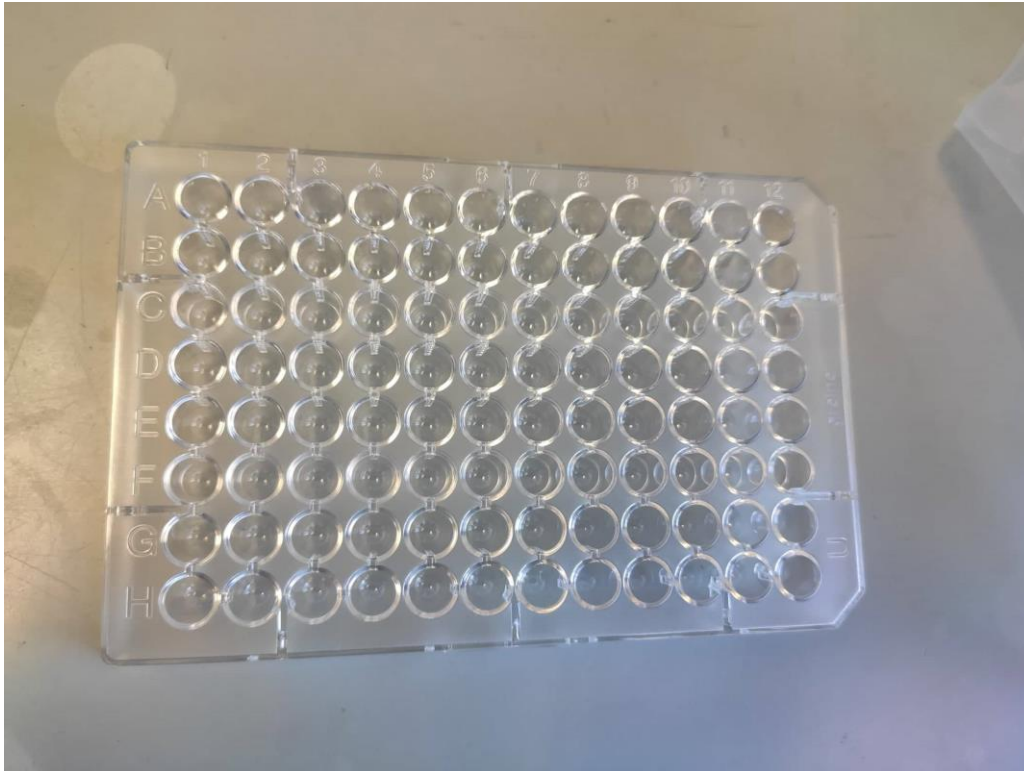


Abbildung 11: 48-Well Mikrotiterplatte

Dazu wurden je nach Testgruppe vor der Behandlung 10 μ l NaCl-Lösung oder 10 μ l PS in die Löcher der Mikrotiterplatte gegeben. Nach der Behandlung wurden zu jedem Loch der Mikrotiterplatte 80 μ l sterile 0,9 %ige NaCl-Lösung¹⁸ zugegeben. Anschließend wurde die 100 μ l Lösung in ein steriles 9ml NaCl-Lösung-Gefäß gegeben und in einem Vortex Mixer¹⁹ durchmischt. Daraus wurden 0,1ml pipettiert, auf eine Agarplatte übertragen und mittels eines Glasspatels ausgestrichen²⁰.

Der Versuch wurde je Behandlungsgruppe zehn Mal wiederholt. Täglich wurden 60 Versuche pro Keim durchgeführt. Pro Versuch wurde nur ein Loch verwendet, um eine Kontamination sowie Beeinflussung der Versuchsergebnisse zu vermeiden.

¹⁷ Greiner Bio-One (Frickenhausen)

¹⁸ Oxoid Deutschland GmbH (Wesel)

¹⁹ VWR International (Radnor, Pennsylvania, Vereinigte Staaten)

²⁰ VWR International (Radnor, Pennsylvania, Vereinigte Staaten)

Die Einwirkzeit des Photosensitizers betrug immer 60 Sekunden, bevor mit der LAD-Lichtaktivierung begonnen wurde. Diese erfolgte mittels der Einwegansätze „Blunt-Tip“ mit einer Distanz von ca. 7,5 mm zur Oberfläche der Bakteriensuspension in der 48-Well Mikrotiterplatte (Abb. 12).

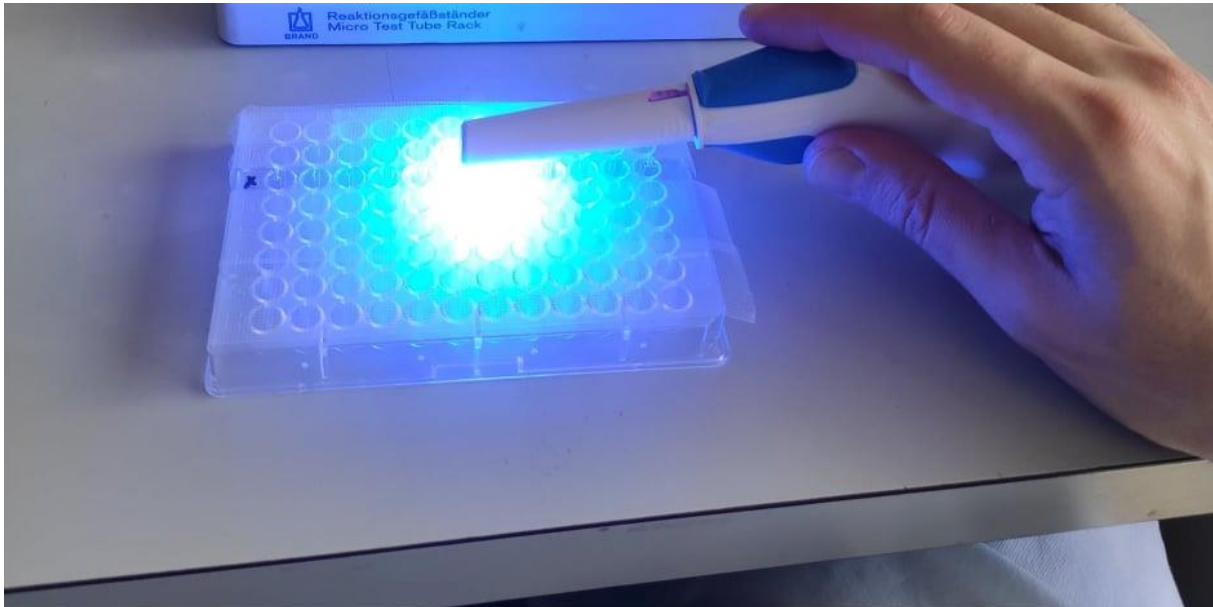


Abbildung 12: LAD-Lichtaktivierung mittels der Einwegansätze „Blunt-Tip“ mit einer Distanz von ca. 7,5 mm zur Oberfläche der Bakteriensuspension in der 48-Well Mikrotiterplatte.

Die gleichen Versuche wurden nochmals wiederholt, aber beim zweiten Mal mit Zugabe von 20 % Schafblut²¹ zur Keimsuspension, so dass am Ende eine Keimsuspension von 10^7 KbE/ml vorhanden war. Das Schafblut sollte die Blutung in den Zahnfleischtaschen imitieren und somit die Wirkung des Versuches unter diesen Bedingungen untersuchen.

3.7 Die Testgruppen

Es wurden folgende Untersuchungsgruppen gebildet:

- (1) Ohne Photosensitizer und Lichtaktivierung (Kontrollgruppe) (n=10)
- (2) Lichtaktivierung mit LAD (FlashMax[®] P7, 7.500 mW/cm²) für eine Dauer von 30 Sekunden ohne Photosensitizer (n=10)

²¹ Acila AG (Mörfelden-Walldorf)

- (3) Lichtaktivierung mit LAD (FlashMax® P7, 7.500 mW/cm²) für eine Dauer von 60 Sekunden ohne Photosensitizer (n=10)
- (4) Photosensitizer (QroxB2) mit 60 Sekunden Einwirkzeit ohne Lichtaktivierung (n=10)
- (5) Photosensitizer (QroxB2) mit 60 Sekunden Einwirkzeit + Lichtaktivierung mit LAD (FlashMax® P7, 7.500 mW/cm²) für eine Dauer von 30 Sekunden (n=10)
- (6) Photosensitizer (QroxB2) mit 60 Sekunden Einwirkzeit + Lichtaktivierung mit LAD (FlashMax® P7, 7.500 mW/cm²) für eine Dauer von 60 Sekunden (n=10)

3.8 Kolonien

	Inkubationszeit
<i>S. aureus</i>	24 h
<i>S. mutans</i>	48 h
<i>C. albicans</i>	48 h
<i>B. fragilis</i>	48 h
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	72 h

Je nach Keim war die Inkubationszeit unterschiedlich. Nach der oben genannten Inkubationszeit wurden die Columbia-Agarplatten mit Schafblut-Selektivnährböden aus dem Brutschrank entnommen und die auf ihnen gewachsenen Kolonien gezählt. Anschließend wurde die Anzahl der koloniebildenden Einheiten (KbE/ml) ausgewertet.

3.9 Statistische Auswertung

Alle statistischen Berechnungen erfolgten mit Hilfe des Programmes IBM SPSS Statistics Version 27. Für die Werte der 10 Proben wurde der Median als repräsentativer Wert herangezogen. Die Auswertung der Behandlungsergebnisse wurde nach der univariaten Varianzanalyse (UNIANOVA) in SPSS durchgeführt. Für das Feststellen statistisch signifikanter Differenzen musste die Irrtumswahrscheinlichkeit p der statistischen Vergleiche einen α -Wert von jeweils 0,05 unterschreiten.

Die relative Anzahl der verbliebenen Kolonien nach einer Desinfektion wurde logarithmisch dargestellt. Die Desinfektion galt als biologisch relevant, wenn eine Reduktion von mindestens $3 \text{ Log}_{10} \text{ KbE/ml}$ erreicht wurde (Boyce and Pittet, 2002).

4 Ergebnisse

4.1 *S. aureus*

Wie bereits oben erwähnt, wurden die fünf Behandlungsgruppen je Keim und die unbehandelte Kontrollgruppe zehn Mal wiederholt, jeweils einmal mit und einmal ohne Schafblut und anschließend deren Mittelwert berechnet.

Bis auf die Behandlungsgruppe PS+30sLAD kam es bei den Behandlungsgruppen ohne Schafblutzusatz zu unterschiedlichen signifikanten Keimreduktionen ($p < 0,001$).

Es konnte eine hochsignifikante Reduktion der Keimzahl von *S. aureus*, v.a. bei den Gruppen mit einer Kombination von Licht 60s und Photosensitizer von ca. 1,2 Log_{10} KbE/ml ($p < 0,001$) festgestellt werden (Abb. 13a+14).

Eine Belichtungsdauer von 30s führte zu einer insignifikanten Reduktion der Keimzahl von 0,405 Log_{10} KbE/ml ($p = 0,880$) (Abb. 13a-b+14). Die alleinige Anwendung von PS resultierte in einer Keimreduktion um 0,258 Log_{10} KbE/ml ($p < 0,001$).

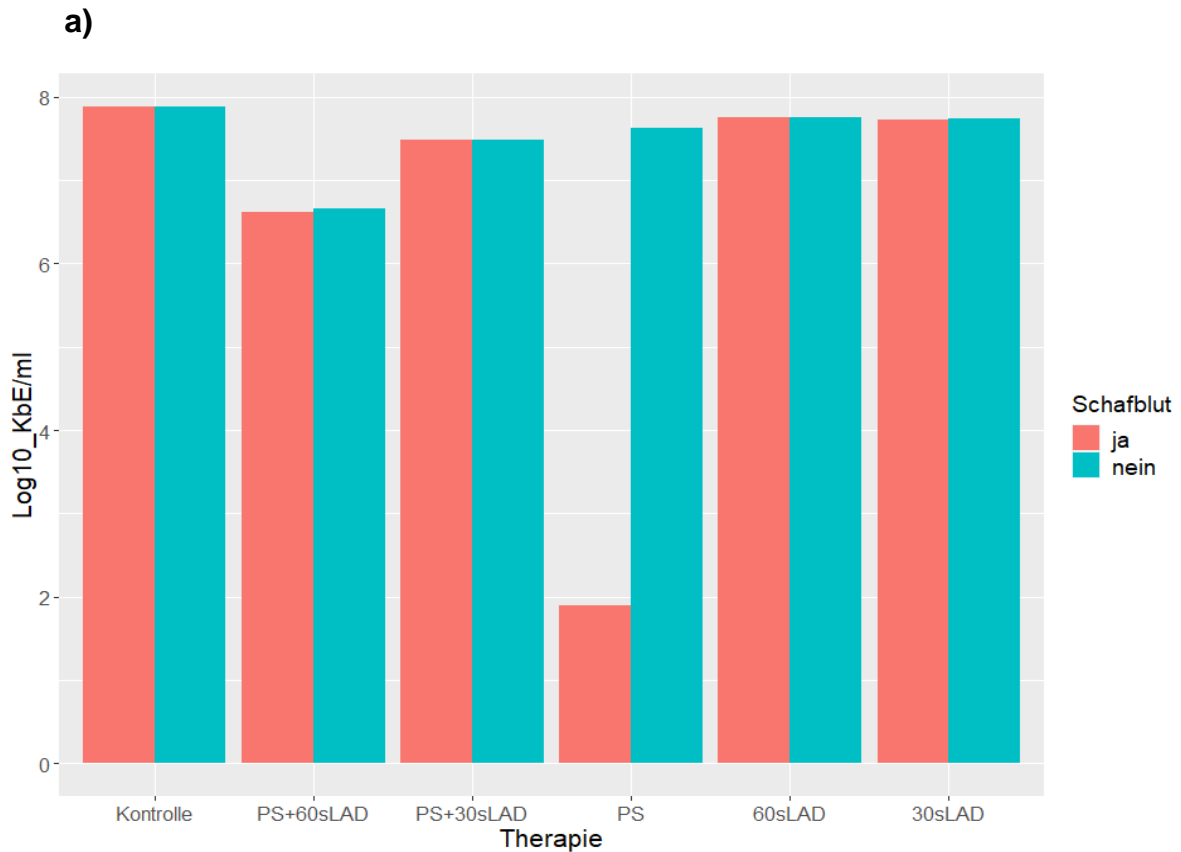
Bei den Behandlungsgruppen (30s und 60sLAD) mit Schafblutzusatz war die leichte Keimreduktion insignifikant ($p = 0,814$).

Bei der Gruppe des Photosensitizers mit Schafblut lässt sich eine erhebliche hochsignifikante biologisch relevante Reduktion der Keimzahl von 5.990 Log KbE/ml ($p < 0,001$) bemerken (Abb. 13a-c). Außerdem waren die Ergebnisse anderer Behandlungsgruppen ähnlich wie die ohne Schafblutzusatz ($p < 0,001$).

Abbildung 13 a-c: a) Bakterienzahl von *S. aureus* in Log₁₀ KBE/ml nach den unterschiedlichen Behandlungen.

b) Mittlere Log₁₀ Reduktion in KbE/ml, Keimreduktion in % und p-Wert von *S. aureus* ohne Schafblut

c) Mittlere Log₁₀ Reduktion in KbE/ml, Keimreduktion in % und p-Wert von *S. aureus* mit Schafblut



b)	PS+60sLAD	PS+30sLAD	PS	60sLAD	30sLAD
Mittlere Log ₁₀ Reduktion in KbE/ml	1,227	0,405	0,258	0,126	0,141
Keimreduktion in %	94 %	61 %	45 %	25 %	27 %
p-Wert	<0,001	0,880	<0,001	<0,001	<0,001

c)	PS+60sLAD	PS+30sLAD	PS	60sLAD	30sLAD
Mittlere Log ₁₀ Reduktion in KbE/ml	1,266	0,407	5,990	0,132	0,157
Keimreduktion in %	94 %	61 %	99 %	26 %	30 %
p-Wert	<0,001	<0,001	<0,001	0,814	0,780

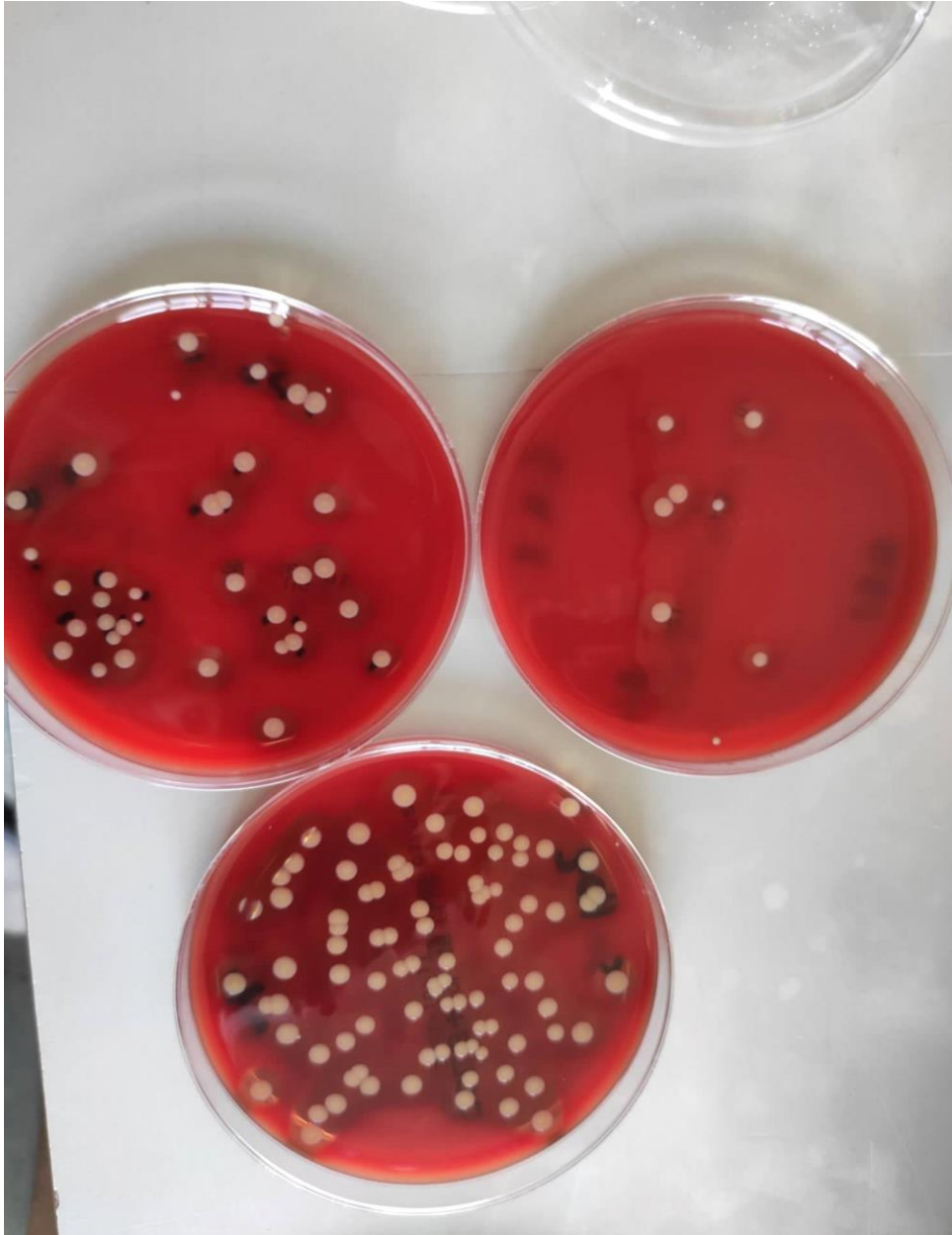


Abbildung 14: Besiedelung der Agarplatte mit *S. aureus*. Unten Kontrollgruppe, oben links Behandlungsgruppe (PS+30sLAD) und oben rechts Behandlungsgruppe (PS+60sLAD).

4.2 *S. mutans*

Bei den Behandlungsgruppen ohne Schafblut ist eine unterschiedliche statistisch signifikante Reduktion von *S. mutans* ($p < 0,001$) zu beobachten.

Die Gruppen PS+60sLAD und PS+30sLAD zeigten eine hochwirksame Keimreduktion bis zu 7,338 Log_{10} KbE/ml ($p < 0,001$) im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe (Abb. 15a+16). Im Gegensatz dazu führten die anderen Behandlungsgruppen PS und LAD zu Keimreduktionen zwischen 0,113 - 0,707 Log_{10} KbE/ml (Abb. 15a-b).

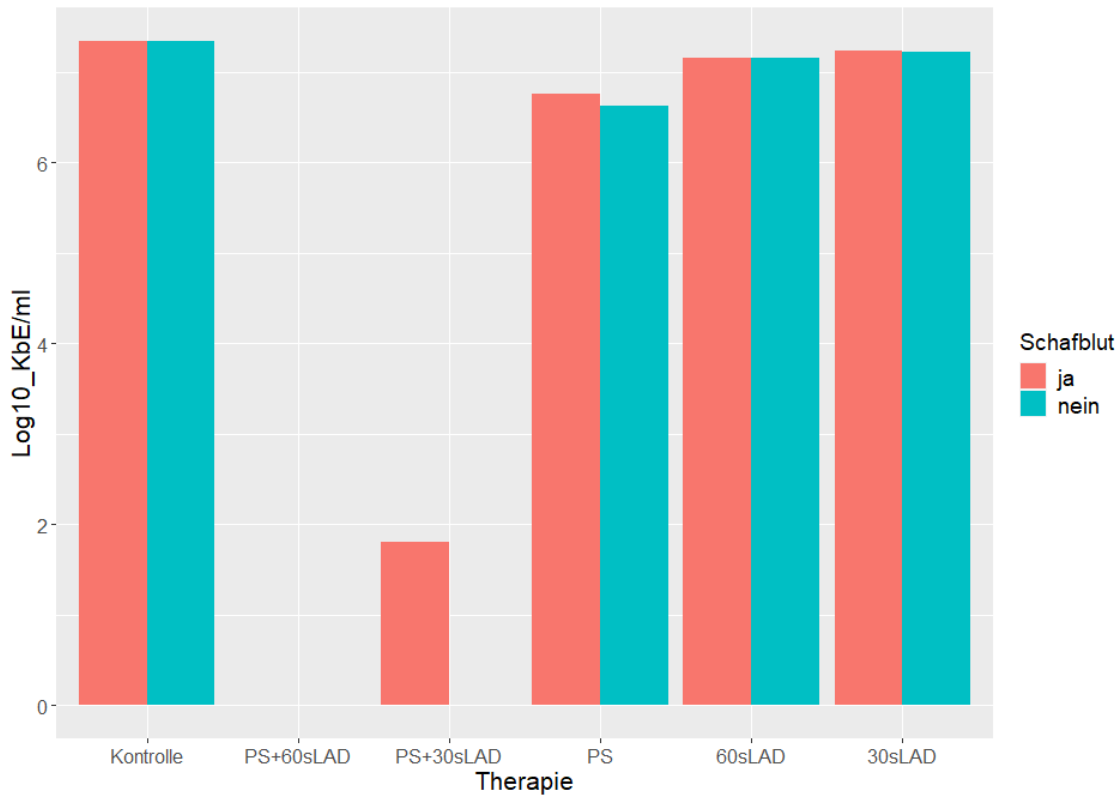
Auf der anderen Seite führte der Zusatz von Schafblut zu einer signifikanten Keimreduktion um ca. 7,3 Log_{10} KbE/ml bei PS+60sLAD und 5,5 Log_{10} KbE/ml bei PS+30sLAD ($p < 0,001$). Dahingehend war die Keimreduktion insignifikant bei PS 0,591 ($p = 0,270$), 60sLAD 0,195 ($p = 0,715$) und 30sLAD 0,112 ($p = 0,833$), Log_{10} -Stufe (Abb. 15a-c).

Abbildung 15 a-c: a) Bakterienzahl von *S. mutans* in Log_{10} KBE/ml nach den unterschiedlichen Behandlungen.

b) Mittlere Log_{10} Reduktion in KbE/ml, Keimreduktion in % und p-Wert von *S. mutans* ohne Schafblut.

c) Mittlere Log₁₀ Reduktion in KbE/ml, Keimreduktion in % und p-Wert von S. mutans mit Schafblut.

a)



b)	PS+60sLAD	PS+30sLAD	PS	60sLAD	30sLAD
Mittlere Log ₁₀ Reduktion in KbE/ml	7,338	7,338	0,707	0,185	0,113
Keimreduktion in %	100 %	100 %	80 %	34 %	22 %
p-Wert	< 0,001	< 0,001	<0,001	< 0,001	< 0,001

c)	PS+60sLAD	PS+30sLAD	PS	60sLAD	30sLAD
Mittlere Log ₁₀ Reduktion in KbE/ml	7,345	5,545	0,591	0,195	0,112
Keimreduktion in %	100 %	99 %	74 %	36 %	23 %
p-Wert	< 0,001	< 0,001	0,270	0,715	0,833

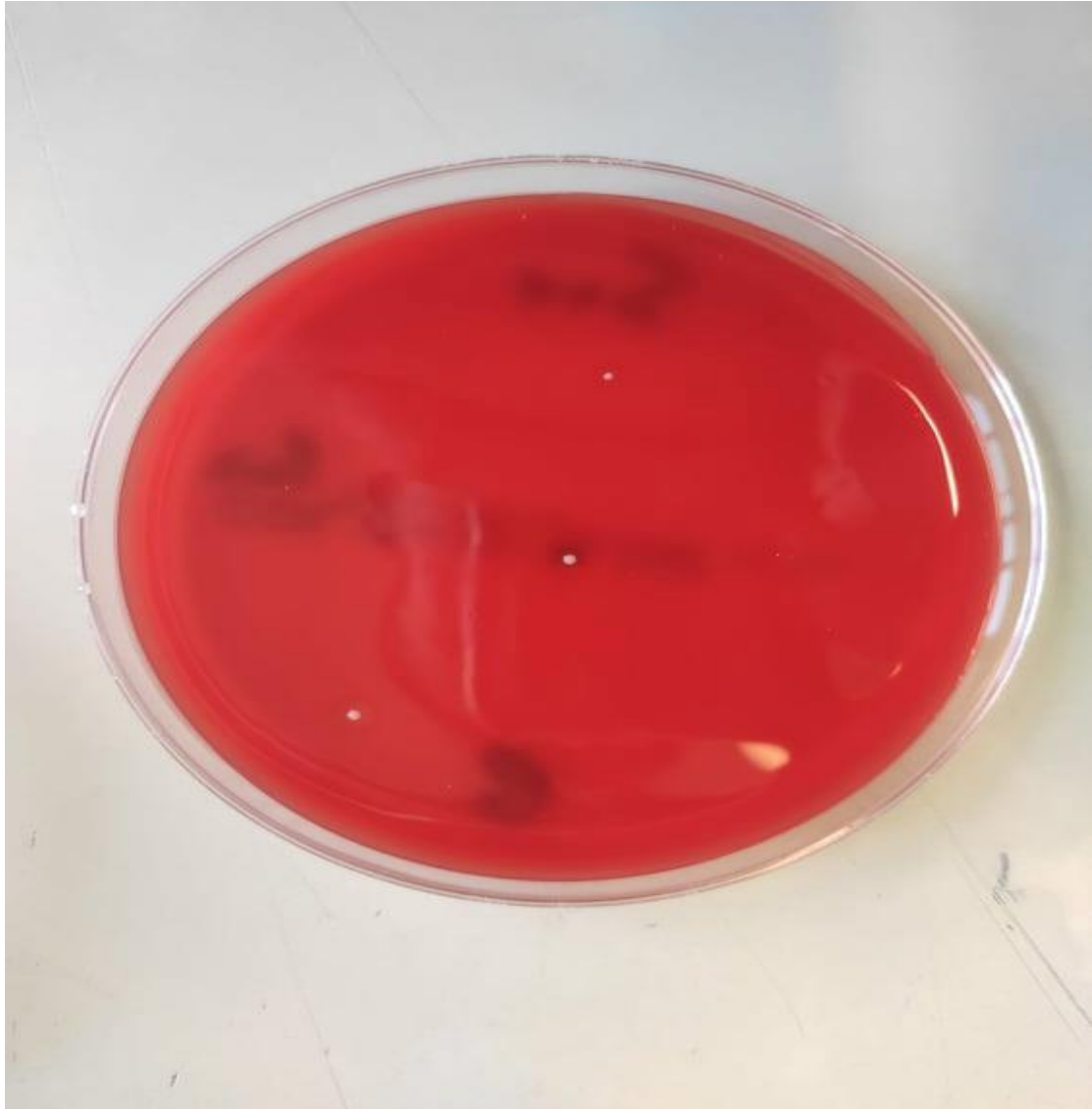


Abbildung 16: Besiedelung der Agarplatte mit *S. mutans* und Schafblut nach Behandlung mit Photosensitizer und Licht für 30s.

4.3 *B. fragilis*

Ähnlich wie bei *S. mutans* zeigten die Gruppen PS+60sLAD und PS+30sLAD einen hochsignifikanten Unterschied und eine antimikrobielle Wirksamkeit von bis zu 6,924 Log_{10} KbE/ml ($p < 0,001$) Keimreduktion im Vergleich zu den anderen Behandlungsgruppen, deren Keimreduktion zwischen 0,678 Log_{10} KbE/ml bei PS und unter 0,4 Log_{10} -Stufe ($p < 0,001$) bei LAD betrug (Abb. 17a-b+18).

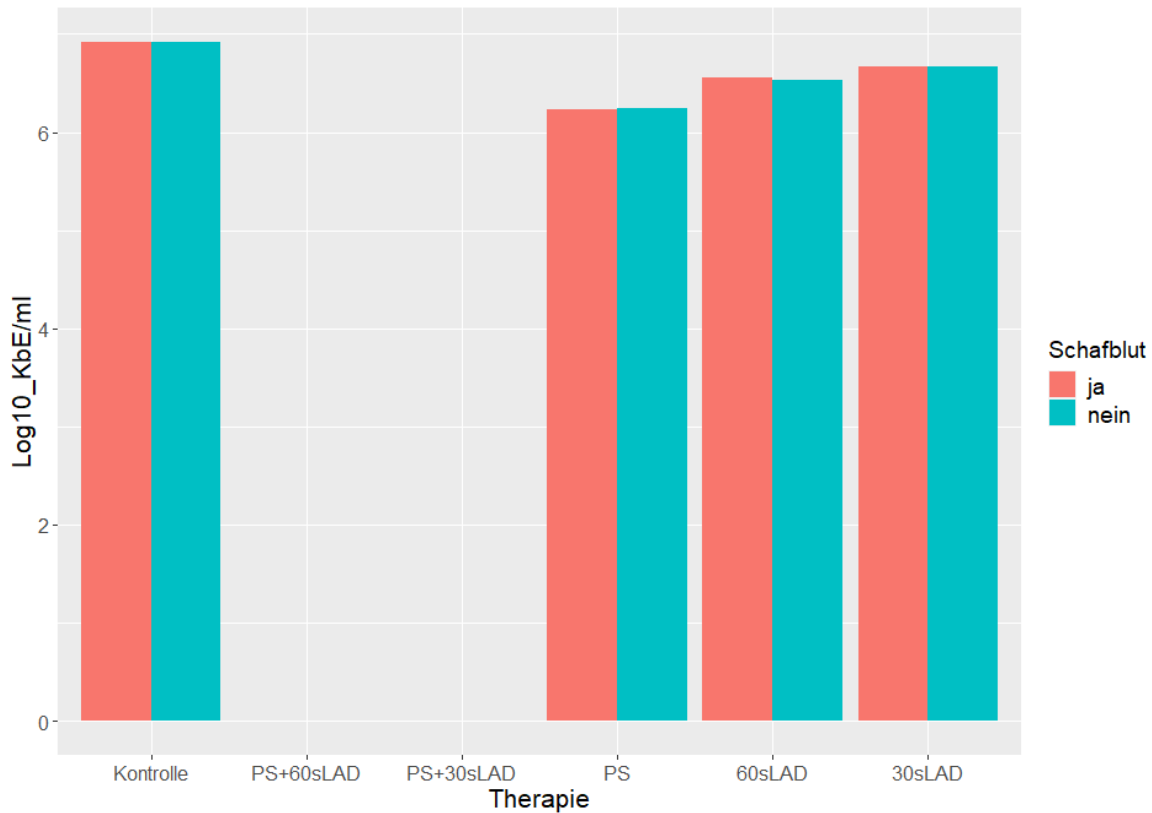
Der Zusatz von Schafblut zeigte ähnlich signifikante Ergebnisse bei allen Behandlungsgruppen (Abb. 17a-c).

Abbildung 17 a-c: a) Bakterienzahl von *B. fragilis* in Log_{10} KBE/ml nach den unterschiedlichen Behandlungen.

b) Mittlere Log₁₀ Reduktion in KbE/ml, Keimreduktion in % und p-Wert von B. fragilis ohne Schafblut.

c) Mittlere Log₁₀ Reduktion in KbE/ml, Keimreduktion in % und p-Wert von B. fragilis mit Schafblut.

a)



b)	PS+60sLAD	PS+30sLAD	PS	60sLAD	30sLAD
Mittlere Log ₁₀ Reduktion in KbE/ml	6,924	6,924	0,678	0,387	0,255
Keimreduktion in %	100 %	100 %	78 %	57 %	44 %
p-Wert	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

c)	PS+60sLAD	PS+30sLAD	PS	60sLAD	30sLAD
Mittlere Log ₁₀ Reduktion in KbE/ml	6,918	6,918	0,689	0,364	0,250
Keimreduktion in %	100 %	100 %	78 %	55 %	43 %
p-Wert	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001



Abbildung 18: Besiedelung der Agarplatte mit *B. fragilis* nach Behandlung mit Licht für 30s.

4.4 *A. actinomycetemcomitans*

Bei *A. actinomycetemcomitans* zeigten die Behandlungsgruppen eine sehr unterschiedliche Keimreduktion, ebenso beim Zusatz von Schafblut im Vergleich zu den Behandlungsgruppen ohne Schafblut (Abb. 19a-b-c).

Somit betrug die insignifikante Keimreduktion im Vergleich zur Kontrollgruppe bei PS+60sLAD 4,278 Log₁₀ KbE/ml ($p=0,244$), PS+30sLAD 4,908 Log₁₀ KbE/ml ($p=0,198$) und von LAD alleine knapp 3 Log₁₀-Stufen ($p=0,021$), während die Behandlungsgruppe PS alleine in nur 0,098 Log₁₀ KbE/ml ($p=0,932$) resultierte (Abb. 19a-b+20).

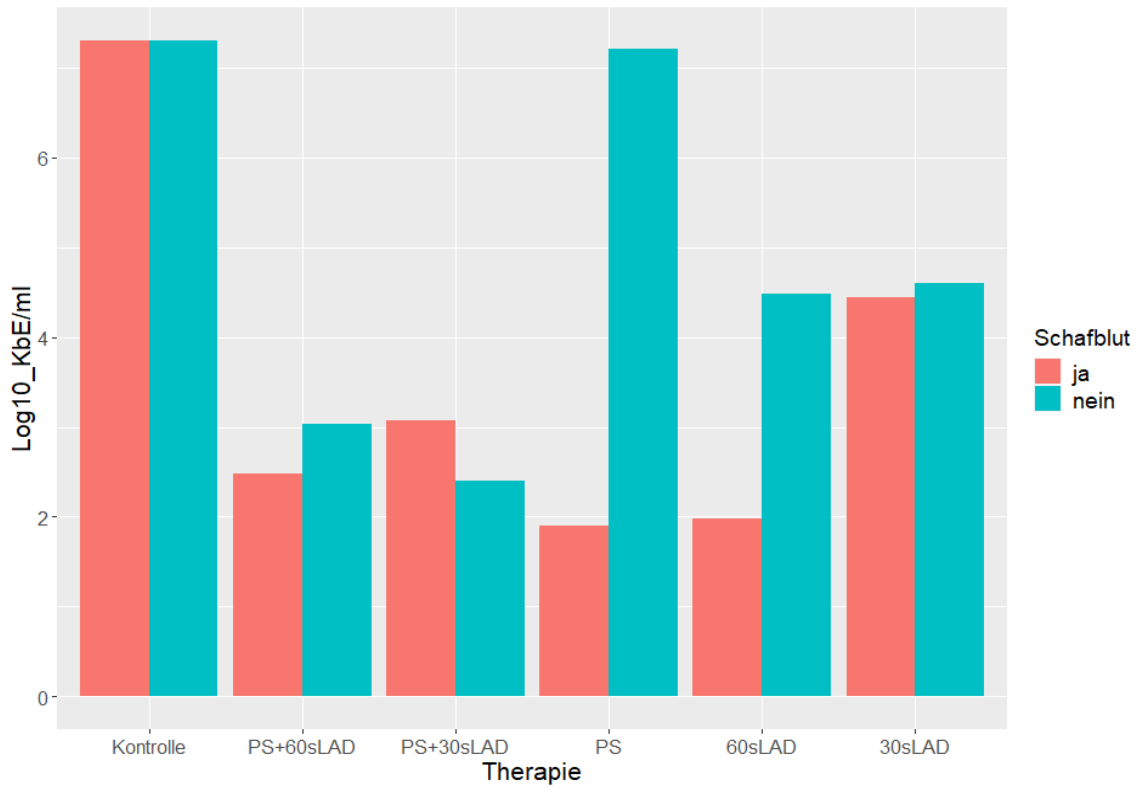
Andererseits zeigten die Ergebnisse der Behandlungsgruppen mit Schafblut bei PS, 60sLAD und PS+60sLAD eine hochsignifikante Keimreduktion um ca. 5,4 und 4,830 Log₁₀ KbE/ml ($p<0,001$) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Die anderen Behandlungsgruppen (PS+30sLAD und 30sLAD) zeigten eine sehr ähnliche insignifikante Keimreduktion wie bei denen ohne Schafblut ($p=0,014$) (Abb. 19a-c).

Abbildung 19 a-c: a) Bakterienzahl von *A. actinomycetemcomitans* in Log₁₀ KBE/ml nach den unterschiedlichen Behandlungen.

b) Mittlere Log₁₀ Reduktion in KBE/ml, Keimreduktion in % und p-Wert von *A. actinomycetemcomitans* ohne Schafblut.

c) Mittlere Log₁₀ Reduktion in KBE/ml, Keimreduktion in % und p-Wert von *A. actinomycetemcomitans* mit Schafblut.

a)



b)	PS+60sLAD	PS+30sLAD	PS	60sLAD	30sLAD
Mittlere Log ₁₀ Reduktion in KBE/ml	4,278	4,908	0,098	2,822	2,709
Keimreduktion in %	97 %	98 %	19 %	90 %	87 %
p-Wert	0,244	0,198	0,932	0,014	0,021

c)	PS+60sLAD	PS+30sLAD	PS	60sLAD	30sLAD
Mittlere Log ₁₀ Reduktion in KBE/ml	4,830	4,230	5,408	5,330	2,862
Keimreduktion in %	97 %	96 %	96 %	94 %	91 %
p-Wert	0,002	0,014	<0,001	< 0,001	< 0,010

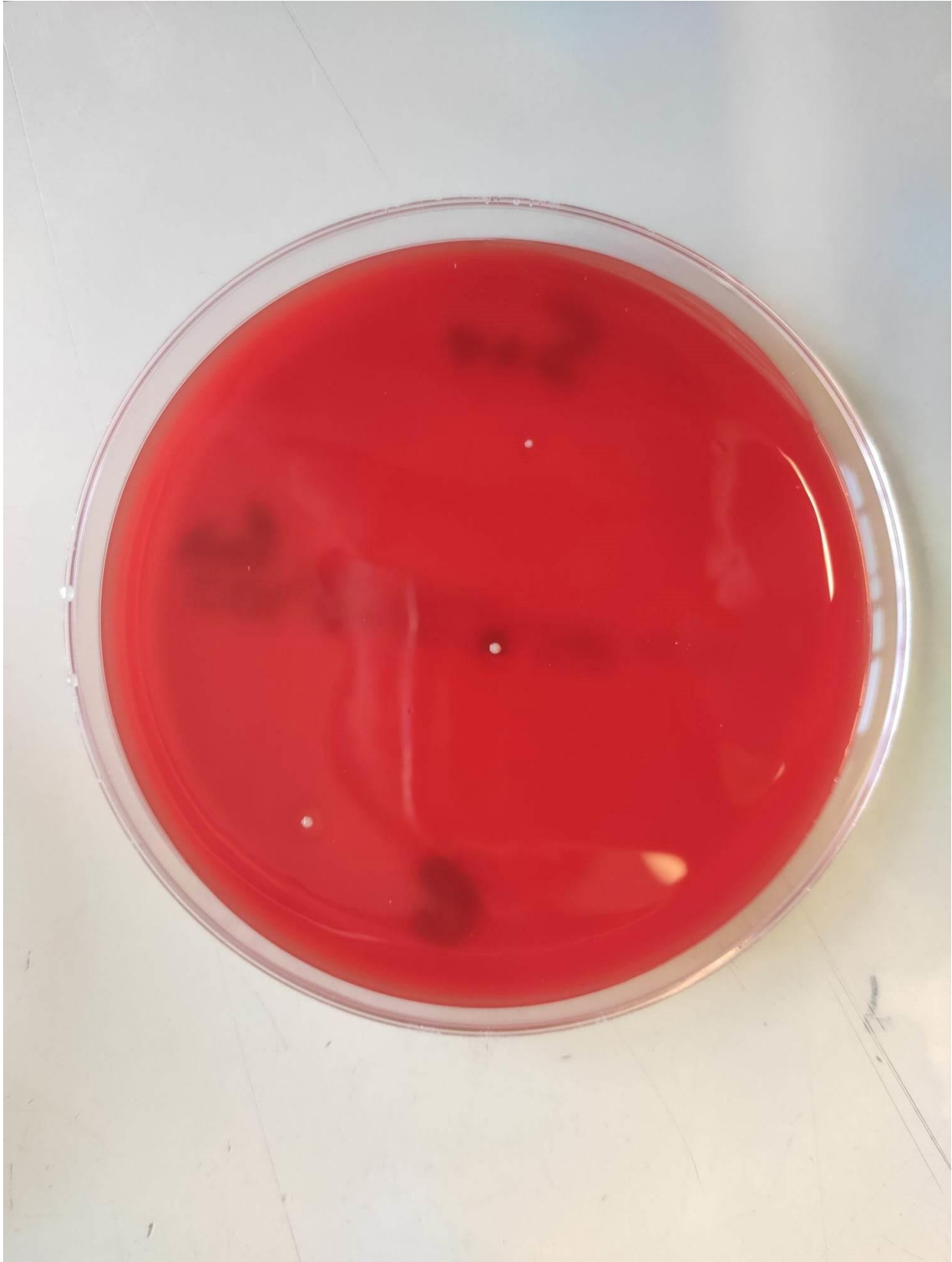


Abbildung 20: Besiedelung der Agarplatte mit *A. actinomycetemcomitans* nach Behandlung mit Photosensitizer und Licht für 60s.

4.5 *C. albicans*

Die Behandlungsgruppen PS+60sLAD, PS+30sLAD und 60sLAD sowie 30sLAD ohne Schafblut führten zu einer ähnlich insignifikanten Keimreduktion im Vergleich zur Kontrollgruppe von 0,159 ($p=0,116$), 0,169 ($p=0,296$), 0,107 ($p=0,073$) und 0,072 ($p=0,233$) Log_{10} KbE/ml. Die alleinige Anwendung von PS resultierte in einer leicht signifikanten Keimreduktion um 0,184 Log_{10} KbE/ml ($p=0,003$) (Abb. 21a-b+22).

Beim Schafblutzusatz lässt sich eine leichte signifikante Keimreduktion der Behandlungsgruppen PS+30sLAD, PS und 30sLAD ($p<0,001$) vergleichbar mit den Behandlungsgruppen ohne Schafblut feststellen. Dagegen kam es bei den Behandlungsgruppen PS+60sLAD und 60sLAD zu einer insignifikanten Keimreduktion um 0,159 und 0,006 Log_{10} KbE/ml (Abb. 21a-c+22).

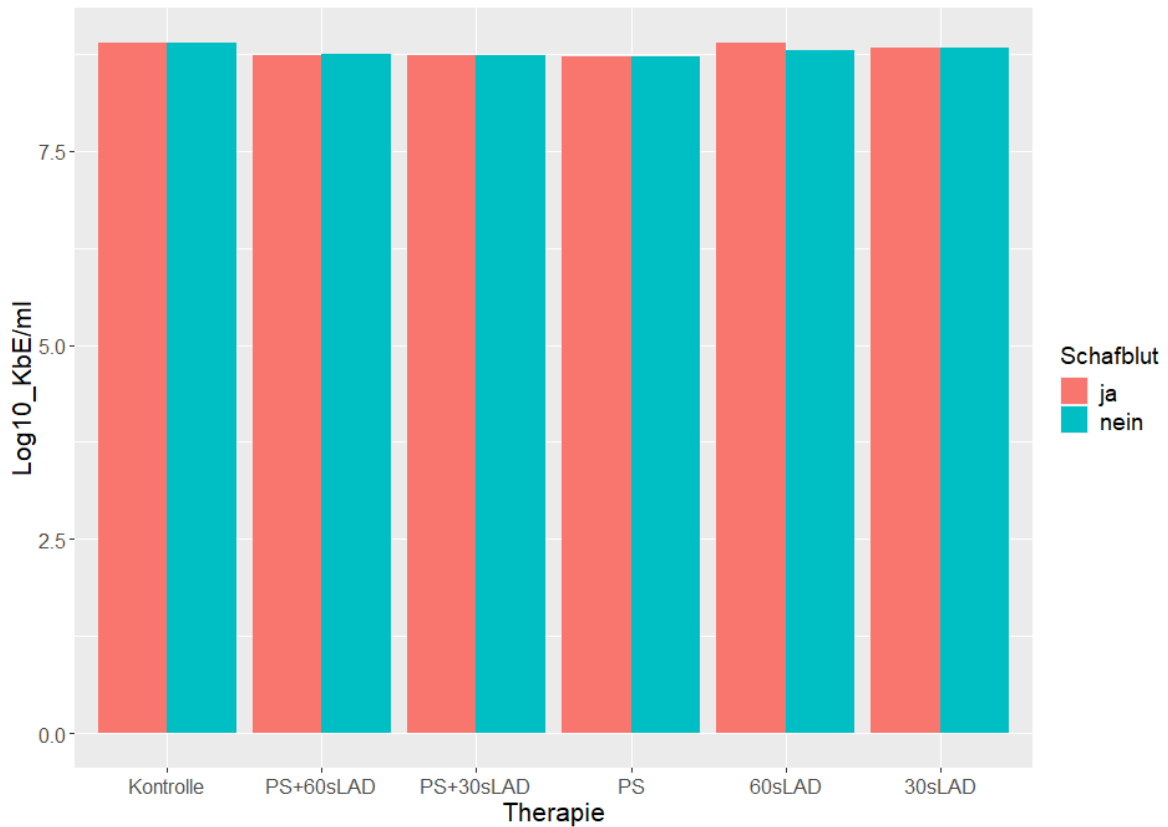
Es gab keine biologisch relevante antimykotische Wirkung oder Desinfektionswirkung bei allen Gruppen (Abb. 21a-b-c).

Abbildung 21 a-c: a) Bakterienzahl von *C. albicans* in Log₁₀ KBE/ml nach den unterschiedlichen Behandlungen.

b) Mittlere Log₁₀ Reduktion in KbE/ml, Keimreduktion in % und p-Wert von *C. albicans* ohne Schafblut.

c) Mittlere Log₁₀ Reduktion in KbE/ml, Keimreduktion in % und p-Wert von *C. albicans* mit Schafblut.

a)



b)	PS+60sLAD	PS+30sLAD	PS	60sLAD	30sLAD
Mittlere Log ₁₀ Reduktion in KbE/ml	0,159	0,169	0,184	0,107	0,072
Keimreduktion in %	32 %	32 %	35 %	18 %	15 %
p-Wert	0,116	0,296	0,003	0,073	0,233

c)	PS+60sLAD	PS+30sLAD	PS	60sLAD	30sLAD
Mittlere Log ₁₀ Reduktion in KbE/ml	0,162	0,173	0,183	0,006	0,064
Keimreduktion in %	31 %	33 %	34 %	1 %	14 %
p-Wert	0,052	< 0,001	<0,001	0,538	< 0,001



Abbildung 22: Besiedelung der Agarplatte mit *C. albicans* nach Behandlung mit Photosensitizer und Licht für 60s.

5 Diskussion

Die Wirksamkeit der photodynamischen Therapie mittels verschiedenen PS ist bereits in vielen Studien untersucht worden, sowohl in In-vitro- als auch in In-vivo-Studien (de Oliveira et al., 2019, Chambrone et al., 2018) . Wie bereits in Kapitel zwei aufgezeigt wurde, ist die Wirkung und der Nutzen der aPDT im Rahmen der Parodontitistherapie umstritten. Die In-vitro-Studien zeigten meistens positivere Ergebnisse und Potenziale der aPDT Im Vergleich zu den klinischen Studien (Pan et al., 2020, Paolillo et al., 2021, Schär et al., 2020, Chambrone et al., 2018, Trombelli et al., 2020).

Nach der aktuellen S3-Leitlinie zur Behandlung von Parodontitis Stadium I-III sollte die adjuvante antimikrobielle photodynamische Therapie zusätzlich zur subgingivalen Instrumentierung bei Patienten mit Parodontitis nicht angewendet werden, da laut der aktuellen Studienlage keine positiven klinischen Ergebnisse vorliegen. Weiterhin wurde konstatiert, dass die mit der adjuvanten aPDT-Therapie verbundenen zusätzlichen Kosten nicht gerechtfertigt erscheinen.

Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass die aPDT, unabhängig von einem bestimmten Photosensitizer, im Vergleich zur konventionellen Parodontaltherapie keine klinische Verbesserung der klinischen Parameter CAL und TST bei Parodontitis- und Periimplantitispatienten erzielte (Chambrone et al., 2018).

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Wirkung von Curcumin als PS mit und ohne Hilfe der Flashmax® P7 LED-Lampe auf unterschiedliche aerobe und anaerobe Bakterien der oralen Keimflora und *Candida albicans* zu untersuchen. Hierbei sollte die antibakterielle/antifungale Wirkung sowohl bei der kombinierten Anwendung von Photosensitizer und LAD, als auch nach der jeweils alleinigen Anwendung von PS und LAD, untersucht werden. Zudem sollte auch ein möglicher Einfluss der Einwirkzeit des PS als auch der Belichtungsdauer untersucht werden.

Ein Vorteil der untersuchten LED-Lampe gegenüber einem Diodenlaser ist die leichte Handhabung sowie die weniger gefährliche Lichtquelle, der zu Schäden an der Retina bei fehlenden Schutzmaßnahmen führen kann (Satrom et al., 1987). Außerdem bietet die Flashmax® P7 eine starke Lichtintensität von 7.500 mW/cm² und somit eine verkürzte Anwendungsdauer am Patienten.

5.1 *S. aureus*

In den vorliegenden In-vitro-Versuchen ohne Schafblut zeigte sich eine Keimreduktion in allen Behandlungsgruppen (zwischen 0,1 und 1,2 Log₁₀-Stufen), was als eine nicht relevante Desinfektion angesehen werden kann. Die größte Keimreduktion mit 1,2 Log₁₀-Stufen war bei der Kombination von PS und anschließender Lichtaktivierung von 60 Sekunden zu beobachten. Die Keimreduktion bei den Behandlungsgruppen PS+30sLAD sowie LAD+Schafblut war hingegen insignifikant. Nur eine einzige Behandlungsgruppe (PS) konnte nach Zugabe des Schafblutes eine biologisch relevante Desinfektion von 5,9 Log₁₀-Stufen erreichen. Außerdem gab es keine Unterschiede zwischen den anderen Behandlungsgruppen mit oder ohne Schafblut.

Es lässt sich somit feststellen, dass die Lichtaktivierung des Photosensitizers von 60sek. eine größere antibakterielle Wirkung hat als nur von 30sek. und die alleinige Lichtaktivierung kaum Wirkung gezeigt hat.

In Anwesenheit von Schafblut konnte die Bakterienelimination deutlich gesteigert werden, jedoch kam es nach Lichtaktivierung bei der Kombination von Schafblut plus PS zu einer Abnahme der Elimination und es konnten ähnliche Ergebnisse wie bei den Behandlungsgruppen ohne Schafblut verzeichnet werden.

Eine Studie erklärte dieses Phänomen bei *E. faecalis* so, dass es durch den aktivierten Photosensitizer zu einer Oxidation von Proteinen kommt, die ihrerseits durch Bildung freier Radikale toxisch auf die Keime wirken und dass diese Proteine möglicherweise durch zunehmende Bestrahlungsdauer zugrunde gehen. Andererseits wurde bei der Studie die alleinige Wirkung eines Photosensitizers ohne Lichtaktivierung nicht getestet, sodass man keine eindeutige Begründung zu diesem Phänomen hat (Pinheiro et al., 2009).

Eine andere Studie zeigte, dass die Wirkung der aPDT im Blut zusammenhängt mit der Sauerstoffsättigung und Bestrahlungsdauer (Alanazi and Laref, 2022).

In einer In-vitro-Studie an mit *S. aureus* infizierten Wunden bei Ratten zeigte sich nach der Behandlung der infizierten Wunden mit Curcumin und PDT eine Keimreduktion von 2,2 Log₁₀-Stufen (Paolillo et al., 2021). Jedoch betrug die Einwirkungszeit des Photosensitizers bei der genannten Studie 20 Minuten und die Lichtaktivierung war 12,5 Minuten länger als bei der hiesigen Untersuchung.

In einer ähnlichen In-vitro-Studie wurde *S. aureus* für 20 Minuten mit Curcumin und mit einer Lichtaktivierung von 32 Minuten behandelt (Alves et al., 2021). Die Behand-

lung führte zu einer Keimreduktion von 2,5 Log₁₀-Stufen und somit zu einem ähnlichen Ergebnis wie bei der Studie von Paolillo et al. (Paolillo et al., 2021).

Eine weitere In-vitro-Studie zeigte auch die Wirkung von aPDT mit Curcumin als Mundspülung bei einer ähnlichen Labormethodik wie bei den oben genannten Studien. Die Keimreduktion betrug ca. 5 Log₁₀-Stufen nach 60 Tagen Einwirkzeit und einer Bestrahlungsdauer von 30 min. (Rocha et al., 2020).

Aufgrund der unterschiedlichen PS-Einwirkzeit, Lichtaktivierungsdauer sowie dem Einsatz unterschiedlicher LED-Lampen im Vergleich zur vorliegenden Studie sind die Studien nicht gänzlich miteinander vergleichbar. Aus diesem Grunde besteht weiterhin ein großer Forschungsbedarf, um zu untersuchen, welche Rolle das Vorhandensein von Blut, die Dauer der PS-Einwirkzeit sowie die Bestrahlungsdauer auf die Wirkung von aPDT haben.

5.2 *S. mutans*

In der vorliegenden Studie zeigten die Behandlungsgruppen mit und ohne Schafblut ähnliche Ergebnisse bei der Kombination PS+LAD. Somit führten die Behandlungsgruppen PS+LAD beider Belichtungszeiten (30s, 60s) ohne Schafblut, und PS+30LAD mit Schafblut zu einer signifikanten 100%igen Abtötung von *S. mutans* um ca. 5,5 Log₁₀-Stufen. Andererseits führte der alleinige Einsatz von PS zu einer geringen Keimreduktion zwischen 0,6-0,7 bzw. die alleinige Applikation von LAD ca. 0,2 Log₁₀-Stufe. Andererseits kam es bei der Behandlungsgruppe PS und LAD nach Schafblutzusatz zu einer insignifikanten Keimreduktion. Es lässt sich daher feststellen, dass die alleinige Anwendung von LAD und PS keine relevante antibakterielle Wirkung auf *S. mutans* hat und die Belichtungszeit des Photosensitizers keinen wesentlichen Unterschied macht. Die Ergebnisse dieser Studie zur Wirkung von aPDT durch Curcumin unterscheiden sich dabei nicht wesentlich von denen in anderen vorliegenden Studien.

Eine In-vitro-Studie belegte, dass die alleinige Anwendung von Curcumin oder LED mit einer Einwirkungsdauer zwischen 1 - 3 min zur Keimreduktion von unter 1 Log₁₀-Stufe führte und somit eine geringe antibakterielle Wirkung hat. Nur die Bestrahlung von Curcumin mit LED führte zu einer Reduzierung von ca. 5 Log₁₀-Stufen bzw. 96 % (Paschoal et al., 2013). Die Bestrahlungsdauer führte zu keinem signifikanten Unterschied (Paschoal et al., 2013, Lee et al., 2017, Manoil et al., 2014).

Tonon et al. nutzten in ihrer In-vitro-Studie über *S. mutans* und *Lactobacillus acidophilus* verschiedene Lichtintensitäten. Diese führten zu gleichen Ergebnissen. Erneut zeigte hier der Einsatz von Curcumin oder LED alleine keine signifikante antibakterielle Wirkung. Bei der Kombination PS+LED hingegen ergab sich eine Keimreduktion um 70 %. Allerdings führte die Applikation von Curcumin bei verschiedenen Konzentrationen nach einer LED-Bestrahlungsdauer von 5 min zu einer Reduktion von *S. mutans* sowie *Lactobacillus acidophilus* bis zu 100 %. Dagegen zeigte die alleinige Anwendung von PS und LED keine antibakterielle Wirkung (Tonon et al., 2015).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie untermauern die bestehende Literatur, dass nur die Kombination PS+LED eine antibakterielle Wirkung gegen *S. mutans* hat.

5.3 *B. fragilis*

Bei *B. fragilis* führten die Untersuchungen in der vorliegenden Studie zu ähnlichen Ergebnissen wie bei *S. mutans*. Der Zusatz von Schafblut resultierte in denselben Ergebnissen wie bei der Behandlungsgruppe ohne Schafblut.

Infolgedessen führte die Behandlungsgruppe PS+LAD zu absoluter 100%iger hochsignifikanter Keimeliminierung von ca. 7 Log₁₀-Stufen. Beide Lichtaktivierungszeiten (30s, 60s) zeigten die gleiche Desinfektionswirkung.

Die Behandlungsgruppen PS und LAD erzielten eine Keimreduktion unter 1 Log₁₀-Stufe (Ca. 0,7 bzw. 0,3 Log₁₀-Stufe) und somit nur eine geringe antibakterielle Wirkung.

In der Literatur sind kaum Studien zur Wirkung einer aPDT auf *B. fragilis* vorhanden, die die Behandlung von Vancomycin-resistenten *E. faecalis* und *B. fragilis* oder generell von *B. fragilis* In-vitro diskutieren.

Cassidy et al. beschrieben in ihrer Studie die Anwendung und Herstellung von einem oralen Präparat via Hot Melt Extrusion (HME), um eine gezielte Abgabe verschiedener Photosensitizer wie Methylenblau (MB), Porphine tetratosylate (TMP) und 5-Aminolevulinic acid hexyl ester (h-ALA) im anaeroben Milieu des Kolons durchzuführen. Dieses sollte die Kolonbakterien, wie *B. fragilis* und *E. faecalis* angreifen. In der In-vitro-Studie wurden die Photosensitizer einzeln getestet. Die alleinige Anwendung

der verschiedenen PS führte zu Keimreduktionen zwischen 0,6-3,6 Log₁₀-Stufen. Die zusätzliche Applikation des Lichtes führte zu Ergebnissen zwischen 3 und 7,7 Log₁₀-Stufen und somit zu einer 100%igen Keimreduktion. Bei alleinigem Einsatz von Licht resultierte keine Veränderung im Vergleich zur Kontrollgruppe (Cassidy et al., 2011).

Wainwright et al. thematisierten in ihrer Studie, wie das Licht bestimmte Areale des Kolons durch faseroptische Geräte bestrahlen sollte, um das Kolon mittels aPDT zu therapieren (Wainwright et al., 2011).

Einerseits erscheinen die erzielten Ergebnisse der vorliegenden Studie bezüglich der Kombination PS+LED positiv. Andererseits bleibt die klinische Anwendung der aPDT am menschlichen Körper und ihre Wirksamkeit eine offene Frage, die weiter erforscht werden sollte.

5.4 ***A. actinomycescomitans***

In der vorliegenden Studie kam es bei den meisten Behandlungsgruppen zu unterschiedlichen statistisch signifikanten und nicht signifikanten Ergebnissen.

Auf der einen Seite konnten zwischen den Behandlungsgruppen ohne Schafblut keine signifikanten Unterschiede gefunden werden. Dabei führten die Behandlungsgruppen PS+60sLAD und PS+30sLAD zu einer insignifikanten Keimreduktion von 4,2 bzw. 4,9 Log₁₀-Stufen.

Die alleinige Applikation von LAD scheint eine antibakterielle Wirkung mit einer Keimreduktion von ca. 2,7 Log₁₀-Stufen zu haben. Die PS-Gruppe zeigte keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe mit einer ca. 0,1 Log₁₀-Stufe Reduktion.

Andererseits zeigten nur die Gruppen PS, 60sLAD und PS+60sLAD nach Zugabe des Schafblutes eine hochsignifikante antibakterielle Wirkung und führten zu einer Keimreduktion von ca. 5,4 und 4,8 Log₁₀-Stufen. Die Zugabe von Schafblut führte bei den Behandlungsgruppen PS+30sLAD und 30sLAD zu einer insignifikanten Keimreduktion von 4,2 und 2,9 Log₁₀-Stufen im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Andere In-vitro-Studien erzielten zur Wirkung von aPDT mittels Curcumin auf *A. actinomycescomitans* unterschiedliche Ergebnisse. Die alleinige Lichtaktivierung von 60s erzielte keine antibakterielle Wirkung (Pan et al., 2020). Bei der alleinigen Anwendung von PS resultierte eine Keimreduktion von 6 Log₁₀-Stufen (Saitawee et al.,

2018) bzw. keine signifikante antibakterielle Wirkung (Pan et al., 2020). Der kombinierte Einsatz von PS+LED führte zu einer Keimreduktion von 1,5 Log₁₀-Stufen (Pan et al., 2020) bzw. 100%iger Keimabtötung (Saitawee et al., 2018).

Najafi et al. belegten erneut die antibakterielle Wirkung bei der kombinierten Anwendung von PDT und Curcumin mit einer bis zu 3 Log₁₀-Stufen Reduktion. Die alleinige 5-minütige Lichtaktivierung zeigte hingegen keine antibakterielle Wirkung. Andererseits erzielte die Aktivierung von PS eine Keimreduktion um 1,5 Log₁₀-Stufen (Najafi et al., 2016).

Ähnliche Ergebnisse erzielte eine weitere In-vitro-Studie (Pourhajibagher et al., 2018a). Hierbei wurden verschiedene Curcumin-Konzentrationen bzw. Lichtaktivierungszeiten getestet. Die höchste PS-Konzentration führte zu einer 1,5 Log₁₀-Stufen Reduktion, dagegen zeigte die 5-minütige Lichtaktivierung keine signifikante antibakterielle Wirkung. Allerdings wurde bei der Behandlungsgruppe PS + LED eine Keimreduktion um bis zu 2,5 Log₁₀-Stufen erzielt.

Hierbei lässt sich erneut feststellen, dass die Anwendung von PS + LED bei fast allen Studien mindestens 3 Log₁₀-Stufen erreichte und somit die Desinfektion als biologisch relevant einzuordnen ist. Bis auf die Studie von *Saitawee et al.* zeigten die anderen Studien keine beträchtliche antibakterielle Wirksamkeit beim alleinigen Einsatz von PS oder LED.

Anhand der Ergebnisse der vorliegenden Studie lässt sich die erhöhte antibakterielle Wirkung nach Zugabe von Schafblut bei den Behandlungsgruppen PS, PS+60sLAD und 60sLAD erkennbar machen. Dabei scheint die Bestrahlungsdauer von großer Bedeutung zu sein, da die Keimreduktion bei der Gruppe 30sLED fast gleichgeblieben ist.

Wie oben schon erwähnt, kann die angestiegene antibakterielle Wirkung von PS nach Zugabe des Schafblutes so erklärt werden, dass es zu einer Immunstimulation und einer Oxidation von Proteinen kommt, die ihrerseits durch die Bildung freier Radikale toxisch auf die Keime wirken (Weber et al., Pinheiro et al., 2009).

Die enorm erhöhte Desinfektionswirkung der Behandlungsgruppe 60sLAD mit Schafblut lässt sich vermutlich so erklären, dass die Bestrahlung des Blutes zu einer verbesserten Mikrozirkulation, Immunstimulation, Bildung von Stickstoffmonoxid (NO) und antientzündlichen Effekten führt (Weber et al., Kong and Chen, 2022). In der Li-

teratur finden sich keine In-vivo-Studien, die die Hochwirksamkeit des blauen Lichtes gegen *A. actinomycetemcomitans* belegen.

5.5 *C. albicans*

Bei den Versuchen in der vorliegenden Studie führte die aPDT bei allen Behandlungsgruppen zu einer insignifikanten Keimreduktion unter 0,2 Log₁₀-Stufe. Dagegen erzielten die Behandlungsgruppen PS+30sLAD, PS und 30SLAD mit Schafblutzusatz eine geringe Keimreduktion zwischen 0,183 und 0,064 Log₁₀-Stufe. Die Keimreduktion anderer Behandlungsgruppen (PS+60sLAD, 60sLAD) war insignifikant und betrug 0,162 und 0,006 Log₁₀-Stufe.

Es lässt sich feststellen, dass die zusätzliche Lichtaktivierung des PS zu keiner Steigerung der antifungalen Wirkung führte.

Eine In-vitro-Studie zeigte die Wirkung von Curcumin bei verschiedenen Konzentrationen, Einwirkzeiten und einer Lichtaktivierung von 4 und 8 min bei verschiedenen Candida-Spezies. Schon bei einer PS-Einwirkzeit von 1 min und 4 min LED-Bestrahlung betrug die Keimreduktion 89 %. Die Studie zeigte auch eine höhere Keimreduktion bei einer höheren Curcumin-Konzentration sowie Einwirkzeit von bis zu 20 min. Andererseits gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen 4 und 8 min Lichtaktivierung (Andrade et al., 2013).

Eine In-vivo-Studie zeigte die Wirkung von aPDT mittels Curcumin auf *C. albicans* auf den Zungen von Mäusen. Unterschiedliche Curcumin-Konzentrationen wurden auf die Zunge appliziert und für 20 min. einwirken gelassen. Danach wurden sie für 7 min mit einer LED-Lampe aktiviert. Ähnlich wie in der vorliegenden Studie gab es hier auch mehrere Behandlungsgruppen. Die alleinige Anwendung von PS und LED führte zu keinem signifikanten Unterschied im Vergleich zu den Kontrollgruppen. Die Kombination PS+LED hingegen führte bei allen verschiedenen PS Konzentrationen zur Keimreduktion zwischen 1,5 und 3,5 Log₁₀-Stufen (Dovigo et al., 2013).

Pellissari et al. führte eine Studie über die Wirkung von aPDT mittels Curcumin auf Keratinozyten und *C. albicans* durch. Die PS-Einwirkzeit betrug 20 min, die Bestrahlungsdauer 4 min. Die Behandlungsgruppe PS+LED führte zur größten Keimreduktion von ca. 1,7 Log₁₀-Stufen. Andererseits resultierte die alleinige Anwendung von PS

und LED in einer Keimreduktion zwischen 0,2 und 0,5 Log₁₀-Stufe (Pellissari et al., 2016).

Die gleiche Arbeitsgruppe bewies in einer weiteren In-vitro-Studie die Wirkung von aPDT auf *C. albicans* mithilfe einer Mundspülung auf Curcuminbasis. Nach einer Curcumin-Einwirkzeit von 60 Tagen sowie 30 min Bestrahlungsdauer betrug die Keimreduktion ca. 3,5 Log₁₀-Stufen (Pellissari et al., 2016).

Da die meisten Studien, die sich in der Literatur finden lassen, längere PS-Einwirk- sowie Bestrahlungszeiten angewendet haben, lassen sich die Ergebnisse der vorliegenden Studie mit den anderen Studien nur schwer vergleichen. Bei anderen Studien wurde deutlich, dass die lange PS-Einwirkzeit sowie Bestrahlungsdauer einen hohen Einfluss auf die Keimreduktion hatte und dass eine kurze Einwirkzeit und Bestrahlungsdauer keine eindeutige Wirksamkeit gegen *C. albicans* erzielen konnte. Daher lässt sich die geringe antifungale Wirkung in der vorliegenden Studie auf die kurze PS-Einwirkzeit und Bestrahlungsdauer zurückführen.

Curcumin ist phototoxisch und kann als Photosensitizer angewendet werden. Es kann unter Lichtbedingungen eine große Menge an aktivem Sauerstoff mit stark oxidierender Wirkung produzieren. Es hat eine stark abtötende Wirkung auf umliegendes Gewebe und Zellen. Gleichzeitig ist die Lebensdauer von Singulett-Sauerstoff sehr kurz (ca. 10–320 Nanosekunden), was seine Diffusion in Zellen auf nur ca. 10–55 Nanometer begrenzt (Dysart and Patterson, 2005).

Nach wie vor ist eine bessere therapeutische Wirkung des Curcumins im Vergleich zu herkömmlichen Photosensitizern wie Methylenblau und Toluidinblau O sehr umstritten. Curcumin hat den Vorteil, günstig und sicher zu sein. Darüber hinaus besteht einer der wichtigsten Vorteile der Curcumin-vermittelten PDT für die Behandlung oraler Erkrankungen darin, dass sie die Zahnfarbe oder die Farbe ästhetischer Materialien nach der Behandlung nicht verändert. In dieser Hinsicht können einige Photosensitizer, wie Methylenblau und Toluidinblau O aufgrund ihrer hochpigmentierten Natur Veränderungen in der Farbe der Zahnoberfläche und harzhaltiger Restaurationen bewirken (Ricci Donato et al., 2017).

Die Aussagen zu den Ergebnissen meiner o. a. Studie im Zusammenhang mit dem hier getesteten PDT-System können nur im Rahmen dieser Arbeit betrachtet werden.

Inwieweit sich meine Ergebnisse auf andere PDT-Systeme mit unterschiedlicher Lichtquelle und anderem Photosensitizer übertragen lassen, müssen vergleichbare Studien mit entsprechenden PDT-Systemen zeigen. Ebenso sollte überprüft werden, inwieweit z.B. durch eine wiederholte Anwendung der PDT eine Effizienzsteigerung zu erzielen ist. Weitere Chancen zur Verbesserung der Wirksamkeit der PDT könnten auch in Modifikationen des Photosensitizers (Viskosität) sowie der Lichtquelle (Wellenlänge, Lichtleiter, Lichtaufsatz, Beleuchtungsdauer) liegen.

Ein weiterer Forschungsbedarf besteht darin, die Beeinflussung von Blut auf die Wirkung vergleichbarer PDT-Systeme und Photosensitizer In-vitro und In-vivo zu untersuchen und besser zu verstehen.

6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Wirkung der antimikrobiellen photodynamischen Therapie (aPDT) auf die parodontalpathogenen Bakterienspezies *A. actinomycetemcomitans* und *S. aureus*, Mundkeime und Pilze wie *S. mutans* und *C. albicans* sowie Infektionskeime wie *B. fragilis* zu untersuchen. Des Weiteren sollte gezeigt werden, welche Wirkung die alleinige Anwendung eines natürlichen Photosensitizers auf Curcumin-Basis (QroxB2) und LED-Licht (FlashMax® P7, CMS Dental, Dänemark) haben.

Wie zu erwarten, zeigte die Behandlungsgruppe PS+60sLAD ohne Schafblut die größte antibakterielle hochsignifikante Wirkung bei *S. aureus*, *S. mutans*, und *B. fragilis* im Vergleich zur Kontrollgruppe. Andererseits war die Desinfektionswirkung bei *C. albicans* sehr niedrig.

Die Belichtungszeit von 30s weniger führte bei der Behandlungsgruppe PS+30sLAD bei *S. mutans*, *B. fragilis*, und *C. albicans* zu einer ähnlichen Keimreduktion wie bei der Behandlungsgruppe PS+60sLAD. Bei *S. aureus* kam es zu einer verminderten Desinfektionswirkung von ca. 0,4 Log₁₀-Stufe, andererseits zeigte PS+30sLAD bei *A. actinomycetemcomitans* eine leicht höhere Keimreduktion als PS+60LAD. Dies zeigt, dass die kürzere Belichtungszeit von 30s eine ähnliche Desinfektionswirkung hat wie die von 60s.

Die alleinige Anwendung des Photosensitizers auf Curcumin-Basis konnte eine statistisch signifikante Keimreduktion bei *S. aureus*, *S. mutans* und *B. fragilis* aufweisen, aber keine biologisch relevante Desinfektion. Die antibakterielle Wirkung bei *C. albicans* und *A. actinomycetemcomitans* war nicht signifikant und sehr niedrig.

Hingegen zeigte die alleinige Anwendung der LED-Lampe von 60s eine leicht signifikante Keimreduktion bei *S. aureus*, *S. mutans* und *B. fragilis*. Die reduzierte Belichtungszeit von 30s führte zu einem leichten Rückgang der antibakteriellen Wirkung. Die Keimreduktion bei *A. actinomycetemcomitans* war statistisch nicht signifikant, aber erstaunlich groß mit einer Reduktion um 2,8 Log₁₀-Stufen bei 60s Belichtung und 2,7 Log₁₀-Stufen bei 30s. Bei *C. albicans* kam es wieder zu leichter nicht signifikanter Keimreduktion bei beiden Belichtungszeiten.

Der Zusatz von Schafblut führte bei manchen Behandlungsgruppen und Keimen zu einer größeren antibakteriellen Wirkung. So kam es bei *S. aureus* bei der Behandlungsgruppe PS zur Keimreduktion um ca. 6 Log₁₀-Stufen, was als eine biologisch relevante Desinfektion gilt. Überraschenderweise zeigte sich bei den Behandlungsgruppen PS+60sLAD, PS und 60sLAD von *A. actinomycescomitans* nach Zusatz von Schafblut eine hochsignifikante Keimreduktion im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Diese erhöhte antibakterielle Wirkung bei *S. aureus* und *A. actinomycescomitans* nach Zugabe des Schafblutes ist für die klinische Anwendung an Patienten v.a. bei der Parodontitisbehandlung von großer Bedeutung. Diese Erkenntnis sollten in weiterführenden Studien untersucht und abgeklärt werden.

Bei den anderen Behandlungsgruppen kam es zu unveränderten, teilweise insignifikanten Ergebnissen im Vergleich zu denen ohne Schafblut.

Die geringe Probenanzahl dieser Studie könnte ein Grund sein für die insignifikanten Ergebnisse. Diese zeigen jedoch einen klinisch relevanten Effekt, den man in anschließenden Versuchen bei größeren Fallzahlen abklären könnte.

In der Literatur sind kaum In-vivo-Studien zur Wirksamkeit von aPDT mittels Curcumin als PS auf *S. aureus* vorhanden. Das gilt auch für *C. albicans*, *A. actinomycescomitans* und *S. mutans*. Zusammenfassend zeigt die vorliegende Studie, dass der Photosensitizer (QroxB2) auf Curcumin-Basis nach Aktivierung mit der FlashMax® P7 Lampe unterschiedliche phototoxische antibakterielle Effekte auf alle untersuchten Keime zeigte. Dasselbe gilt bei alleiniger Anwendung von PS und FlashMax® P7. Damit scheint dieser natürliche Photosensitizer ein möglicher Kandidat für die klinische Anwendung im Rahmen der aPDT zur Behandlung der Parodontitis, Periimplantitis, von Mundkrankheiten und eventuell zur Bekämpfung von Antibiotikaresistenzen, zu sein. Dies sollte mit breiteren klinischen Studien bestätigt werden.

7 Literaturverzeichnis

- ABRAHAMSE, H. & HAMBLIN, M. R. 2016. New photosensitizers for photodynamic therapy. *Biochem J*, 473, 347-64.
- ALANAZI, R. S. & LAREF, A. 2022. Monte Carlo simulations of photodynamic therapy in human blood model. *Lasers Med Sci*, 37, 1515-1529.
- ALVES, F., GOMES GUIMARAES, G., MAYUMI INADA, N., PRATAVIEIRA, S., SALVADOR BAGNATO, V. & KURACHI, C. 2021. Strategies to Improve the Antimicrobial Efficacy of Photodynamic, Sonodynamic, and Sonophotodynamic Therapies. *Lasers Surg Med*.
- ANDRADE, M. C., RIBEIRO, A. P. D., DOVIGO, L. N., BRUNETTI, I. L., GIAMPAOLO, E. T., BAGNATO, V. S. & PAVARINA, A. C. 2013. Effect of different pre-irradiation times on curcumin-mediated photodynamic therapy against planktonic cultures and biofilms of *Candida* spp. *Archives of Oral Biology*, 58, 200-210.
- ARAÚJO, N. C., FONTANA, C. R., BAGNATO, V. S. & GERBI, M. E. M. 2014. Photodynamic antimicrobial therapy of curcumin in biofilms and carious dentine. *Lasers in Medical Science*, 29, 629-635.
- BEIGHTON, D. 2005. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Community Dent Oral Epidemiol*, 33, 248-55.
- BENJAMIN, R. M. 2010. Oral health: the silent epidemic. *Public Health Rep*, 125, 158-9.
- BERND, A. 2014. Visible light and/or UVA offer a strong amplification of the anti-tumor effect of curcumin. *Phytochem Rev*, 13, 183-189.
- BLACK, G. V. 1981. Extracts from the last century. Susceptibility and immunity by dental caries by G.V. Black. *Br Dent J*, 151, 10.
- BOYCE, J. M. & PITTET, D. 2002. Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 23, S3-40.
- BRAUN, A. 2010. *Antimikrobielle photodynamische Therapie im Rahmen der Endodontie und Parodontitistherapie*, Thieme.
- CANABARRO, A., VALLE, C., FARIAS, M. R., SANTOS, F. B., LAZERA, M. & WANKE, B. 2013. Association of subgingival colonization of *Candida albicans* and other yeasts with severity of chronic periodontitis. *J Periodontal Res*, 48, 428-32.
- CASSIDY, C. M., TUNNEY, M. M., CALDWELL, D. L., ANDREWS, G. P. & DONNELLY, R. F. 2011. Development of Novel Oral Formulations Prepared via Hot Melt Extrusion for Targeted Delivery of Photosensitizer to the Colon. *Photochemistry and Photobiology*, 87, 867-876.
- CHAMBRONE, L., WANG, H. L. & ROMANOS, G. E. 2018. Antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of periodontitis and peri-implantitis: An American Academy of Periodontology best evidence review. *J Periodontol*, 89, 783-803.
- CUSICANQUI MÉNDEZ, D. A., GUTIERRES, E., JOSÉ DIONISIO, E., AFONSO RABELO BUZALAF, M., CARDOSO OLIVEIRA, R., ANDRADE MOREIRA MACHADO, M. A. & CRUVINEL, T. 2018. Curcumin-mediated antimicrobial photodynamic therapy reduces the viability and vitality of infected dentin caries microcosms. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 24, 102-108.
- DA COSTA, L., AMARAL, C., BARBIRATO, D. D. S., LEÃO, A. T. T. & FOGACCI, M. F. 2017. Chlorhexidine mouthwash as an adjunct to mechanical therapy in chronic periodontitis: A meta-analysis. *J Am Dent Assoc*, 148, 308-318.
- DALIRI, F., AZIZI, A., GOUDARZI, M., LAWAF, S. & RAHIMI, A. 2019. In vitro comparison of the effect of photodynamic therapy with curcumin and methylene blue on *Candida albicans* colonies. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 26, 193-198.

- DE OLIVEIRA, A. B., FERRISSE, T. M., MARQUES, R. S., DE ANNUNZIO, S. R., BRIGHENTI, F. L. & FONTANA, C. R. 2019. Effect of Photodynamic Therapy on Microorganisms Responsible for Dental Caries: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci*, 20.
- DENTINO, A., LEE, S., MAILHOT, J. & HEFTI, A. F. 2013. Principles of periodontology. *Periodontol 2000*, 61, 16-53.
- DOVIGO, L. N., CARMELLO, J. C., DE SOUZA COSTA, C. A., VERGANI, C. E., BRUNETTI, I. L., BAGNATO, V. S. & PAVARINA, A. C. 2013. Curcumin-mediated photodynamic inactivation of *Candida albicans* in a murine model of oral candidiasis. *Medical Mycology*, 51, 243-251.
- DOVIGO, L. N., PAVARINA, A. C., RIBEIRO, A. P. D., BRUNETTI, I. L., COSTA, C. A. D. S., JACOMASSI, D. P., BAGNATO, V. S. & KURACHI, C. 2011. Investigation of the Photodynamic Effects of Curcumin Against *Candida albicans*. 87, 895-903.
- DYSART, J. S. & PATTERSON, M. S. 2005. Characterization of Photofrin photobleaching for singlet oxygen dose estimation during photodynamic therapy of MLL cells in vitro. *Phys Med Biol*, 50, 2597-616.
- FERES, M., HAFFAJEE, A. D., ALLARD, K., SOM, S. & SOCRANSKY, S. S. 2001. Change in subgingival microbial profiles in adult periodontitis subjects receiving either systemically-administered amoxicillin or metronidazole. *J Clin Periodontol*, 28, 597-609.
- GHOSH, S., BANERJEE, S. & SIL, P. C. 2015. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update. *Food Chem Toxicol*, 83, 111-24.
- HAJISHENGALLIS, G. 2014. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol*, 35, 3-11.
- HAJISHENGALLIS, G. 2015. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol*, 15, 30-44.
- HEITZ-MAYFIELD, L. J. & LANG, N. P. 2013. Surgical and nonsurgical periodontal therapy. Learned and unlearned concepts. *Periodontol 2000*, 62, 218-31.
- ISLAM, B., KHAN, S. N. & KHAN, A. U. 2007. Dental caries: from infection to prevention. *Med Sci Monit*, 13, Ra196-203.
- JÄRVENSIVU, A., HIETANEN, J., RAUTEMAA, R., SORSA, T. & RICHARDSON, M. 2004. *Candida* yeasts in chronic periodontitis tissues and subgingival microbial biofilms in vivo. *Oral Dis*, 10, 106-12.
- JEPSEN, K. & JEPSEN, S. 2016. Antibiotics/antimicrobials: systemic and local administration in the therapy of mild to moderately advanced periodontitis. *Periodontol 2000*, 71, 82-112.
- KASSEBAUM, N. J., BERNABÉ, E., DAHIYA, M., BHANDARI, B., MURRAY, C. J. & MARCENES, W. 2015. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. *J Dent Res*, 94, 650-8.
- KONG, C. & CHEN, X. 2022. Combined Photodynamic and Photothermal Therapy and Immunotherapy for Cancer Treatment: A Review. *Int J Nanomedicine*, 17, 6427-6446.
- KONOPKA, K. & GOSLINSKI, T. 2007. Photodynamic therapy in dentistry. *J Dent Res*, 86, 694-707.
- KOWALL, B., HOLTFRETER, B., VÖLZKE, H., SCHIPF, S., MUNDT, T., RATHMANN, W. & KOCHER, T. 2015. Pre-diabetes and well-controlled diabetes are not associated with periodontal disease: the SHIP Trend Study. *J Clin Periodontol*, 42, 422-30.
- KT, S., KMK, M., N, B., JIMSON, S. & R, S. 2013. Dental caries vaccine - a possible option? *J Clin Diagn Res*, 7, 1250-3.
- LABBAN, N., TAWHEEL, S. M. A., ALRABIAH, M. A., ALFOUZAN, A. F., ALSHIDDI, I. F. & ASSERY, M. K. 2021. Efficacy of Rose Bengal and Curcumin mediated photodynamic therapy for the treatment of denture stomatitis in patients with habitual cigarette smoking: A randomized controlled clinical trial. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 35, 102380.

- LEE, H. J., KANG, S. M., JEONG, S. H., CHUNG, K. H. & KIM, B. I. 2017. Antibacterial photodynamic therapy with curcumin and Curcuma xanthorrhiza extract against Streptococcus mutans. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 20, 116-119.
- LI, X., YIN, L., RAMAGE, G., LI, B., TAO, Y., ZHI, Q., LIN, H. & ZHOU, Y. 2019. Assessing the impact of curcumin on dual-species biofilms formed by Streptococcus mutans and Candida albicans. *Microbiologyopen*, 8, e937.
- LÖE, H., THEILADE, E. & JENSEN, S. B. 1965. Experimental Gingivitis in Man. *The Journal of Periodontology*, 36, 177-187.
- LOESCHE, W. J., ROWAN, J., STRAFFON, L. H. & LOOS, P. J. 1975. Association of Streptococcus mutans with human dental decay. *Infect Immun*, 11, 1252-60.
- MAHDI, Z., HABIBOALLH, G., MAHBOBEH, N. N., MINA, Z. J., MAJID, Z. & NOOSHIN, A. 2015. Lethal effect of blue light-activated hydrogen peroxide, curcumin and erythrosine as potential oral photosensitizers on the viability of Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum. *Laser Ther*, 24, 103-11.
- MANOIL, D., FILIERI, A., GAMEIRO, C., LANGE, N., SCHRENZEL, J., WATAHA, J. C. & BOUILLAGUET, S. 2014. Flow cytometric assessment of Streptococcus mutans viability after exposure to blue light-activated curcumin. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 11, 372-9.
- MAROTTI, J., HEGER, S., TINSCHERT, J., TORTAMANO, P., CHUEMBOU, F., RADERMACHER, K. & WOLFART, S. 2013. Recent advances of ultrasound imaging in dentistry--a review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 115, 819-32.
- MEINEN, A., REUSS, A., WILLRICH, N., FEIG, M., NOLL, I., ECKMANN, T., AL-NAWAS, B. & MARKWART, R. 2021. Antimicrobial Resistance and the Spectrum of Pathogens in Dental and Oral-Maxillofacial Infections in Hospitals and Dental Practices in Germany. *Front Microbiol*, 12, 676108.
- MORADI, M., FAZLYAB, M., POURHAJIBAGHER, M. & CHINIFORUSH, N. 2021. Antimicrobial action of photodynamic therapy on Enterococcus faecalis biofilm using curing light, curcumin and riboflavin. *Aust Endod J*.
- MOZAYENI, M. A., VATANDOOST, F., ASNAASHARI, M., SHOKRI, M., AZARI-MARHABI, S. & ASNAASHARI, N. 2020. Comparing the Efficacy of Toluidine Blue, Methylene Blue and Curcumin in Photodynamic Therapy Against Enterococcus faecalis. *Journal of lasers in medical sciences*, 11, S49-S54.
- MURRAY, C. J. L., IKUTA, K. S., SHARARA, F., SWETSCHINSKI, L., ROBLES AGUILAR, G., GRAY, A., HAN, C., BISIGNANO, C., RAO, P., WOOL, E., JOHNSON, S. C., BROWNE, A. J., CHIPETA, M. G., FELL, F., HACKETT, S., HAINES-WOODHOUSE, G., KASHEF HAMADANI, B. H., KUMARAN, E. A. P., MCMANIGAL, B., AGARWAL, R., AKECH, S., ALBERTSON, S., AMUASI, J., ANDREWS, J., ARAVKIN, A., ASHLEY, E., BAILEY, F., BAKER, S., BASNYAT, B., BEKKER, A., BENDER, R., BETHOU, A., BIELICKI, J., BOONKASIDECHA, S., BUKOSIA, J., CARVALHEIRO, C., CASTAÑEDA-ORJUELA, C., CHANSAMOUTH, V., CHAURASIA, S., CHIURCHIÙ, S., CHOWDHURY, F., COOK, A. J., COOPER, B., CRESSEY, T. R., CRIOLLO-MORA, E., CUNNINGHAM, M., DARBOE, S., DAY, N. P. J., DE LUCA, M., DOKOVA, K., DRAMOWSKI, A., DUNACHIE, S. J., ECKMANN, T., EIBACH, D., EMAMI, A., FEASEY, N., FISHER-PEARSON, N., FORREST, K., GARRETT, D., GASTMEIER, P., GIREF, A. Z., GREER, R. C., GUPTA, V., HALLER, S., HASELBECK, A., HAY, S. I., HOLM, M., HOPKINS, S., IREGBU, K. C., JACOBS, J., JAROVSKY, D., JAVANMARDI, F., KHORANA, M., KISSOON, N., KOBEISSI, E., KOSTYANEV, T., KRAPP, F., KRUMKAMP, R., KUMAR, A., KYU, H. H., LIM, C., LIMMATHUROTSAKUL, D., LOFTUS, M. J., LUNN, M., MA, J., MTURI, N., MUNERA-HUERTAS, T., MUSICHA, P., MUSSI-PINHATA, M. M., NAKAMURA, T., NANAVATI, R., NANGIA, S., NEWTON, P., NGOUN, C., NOVOTNEY, A., NWAKANMA, D., OBIERO, C. W., OLIVAS-MARTINEZ, A., OLLIARO, P., OOKO, E., et al. 2022. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399, 629-655.

- NAJAFI, S., KHAYAMZADEH, M., PAKNEJAD, M., POURSEPANJ, G., KHARAZI FARD, M. J. & BAHADOR, A. 2016. An In Vitro Comparison of Antimicrobial Effects of Curcumin-Based Photodynamic Therapy and Chlorhexidine, on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *J Lasers Med Sci*, 7, 21-5.
- NARAYANAN, V., MUDDAIAH, S., SHASHIDARA, R., SUDHEENDRA, U., DEEPTHI, N. & SAMARANAYAKE, L. 2020. Variable antifungal activity of curcumin against planktonic and biofilm phase of different candida species. 31, 145-148.
- NOCITI, F. H., JR., CASATI, M. Z. & DUARTE, P. M. 2015. Current perspective of the impact of smoking on the progression and treatment of periodontitis. *Periodontol 2000*, 67, 187-210.
- ODA, D. F., DUARTE, M. A. H., ANDRADE, F. B., MORIYAMA, L. T., BAGNATO, V. S. & DE MORAES, I. G. 2019. Antimicrobial action of photodynamic therapy in root canals using LED curing light, curcumin and carbopol gel. *International Endodontic Journal*, 52, 1010-1019.
- PAN, H., WANG, D. & ZHANG, F. 2020. In vitro antimicrobial effect of curcumin-based photodynamic therapy on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 32, 102055.
- PAOLILLO, F. R., RODRIGUES, P. G. S., BAGNATO, V. S., ALVES, F., PIRES, L. & CORAZZA, A. V. 2021. The effect of combined curcumin-mediated photodynamic therapy and artificial skin on *Staphylococcus aureus*-infected wounds in rats. *Lasers Med Sci*, 36, 1219-1226.
- PASCHOAL, M. A., TONON, C. C., SPOLIDÓRIO, D. M. P., BAGNATO, V. S., GIUSTI, J. S. M. & SANTOS-PINTO, L. 2013. Photodynamic potential of curcumin and blue LED against *Streptococcus mutans* in a planktonic culture. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 10, 313-319.
- PELLISSARI, C. V. G., PAVARINA, A. C., BAGNATO, V. S., MIMA, E. G. D. O., VERGANI, C. E. & JORGE, J. H. 2016. Cytotoxicity of antimicrobial photodynamic inactivation on epithelial cells when co-cultured with *Candida albicans*. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 15, 682-690.
- PETERSEN, P. E. 2005. The burden of oral disease: challenges to improving oral health in the 21st century. *Bull World Health Organ*, 83, 3.
- PICCO, D. D. C. R., CAVALCANTE, L. L. R., TREVISAN, R. L. B., SOUZA-GABRIEL, A. E., BORSATTO, M. C. & CORONA, S. A. M. 2019. Effect of curcumin-mediated photodynamic therapy on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*: A systematic review of in vitro studies. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 27, 455-461.
- PINHEIRO, S. L., SCHENKA, A. A., NETO, A. A., DE SOUZA, C. P., RODRIGUEZ, H. M. & RIBEIRO, M. C. 2009. Photodynamic therapy in endodontic treatment of deciduous teeth. *Lasers Med Sci*, 24, 521-6.
- PLONKA, K. A., PUKALLUS, M. L., BARNETT, A. G., WALSH, L. J., HOLCOMBE, T. H. & SEOW, W. K. 2012. *Mutans streptococci* and *lactobacilli* colonization in pre-dentate children from the neonatal period to seven months of age. *Caries Res*, 46, 213-20.
- POURHAJIBAGHER, M., CHINIFORUSH, N., MONZAVI, A., BARIKANI, H., MONZAVI, M. M., SOBHANI, S., SHAHABI, S. & BAHADOR, A. 2018a. Inhibitory Effects of Antimicrobial Photodynamic Therapy with Curcumin on Biofilm-Associated Gene Expression Profile of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *J Dent (Tehran)*, 15, 169-177.
- POURHAJIBAGHER, M., KAZEMIAN, H., CHINIFORUSH, N., HOSSEINI, N., POURAKBARI, B., AZIZOLLAHI, A., REZAEI, F. & BAHADOR, A. 2018b. Exploring different photosensitizers to optimize elimination of planktonic and biofilm forms of *Enterococcus faecalis* from infected root canal during antimicrobial photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 24, 206-211.
- RAGHAVENDRA, M., KOREGOL, A. & BHOLA, S. 2009. Photodynamic therapy: a targeted therapy in periodontics. *Aust Dent J*, 54 Suppl 1, S102-9.
- RICCI DONATO, H. A., PRATAVIEIRA, S., GRECCO, C., BRUGNERA-JÚNIOR, A., BAGNATO, V. S. & KURACHI, C. 2017. Clinical Comparison of Two Photosensitizers for Oral Cavity Decontamination. *Photomed Laser Surg*, 35, 105-110.

- RING, M. E. 2002. W. D. Miller. The pioneer who laid the foundation for modern dental research. *N Y State Dent J*, 68, 34-7.
- ROCHA, M. P., RUELA, A. L. M., ROSA, L. P., SANTOS, G. P. O. & ROSA, F. C. S. 2020. Antimicrobial photodynamic therapy in dentistry using an oil-in-water microemulsion with curcumin as a mouthwash. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 32, 101962.
- ROCHA, M. P., SANTOS, M. S., RODRIGUES, P. L. F., ARAÚJO, T. S. D., DE OLIVEIRA, J. M., ROSA, L. P., BAGNATO, V. S. & DA SILVA, F. C. 2021. Photodynamic therapy with curcumin in the reduction of enterococcus faecalis biofilm in bone cavity: rMicrobiological and spectral fluorescence analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 33, 102084.
- ROSIER, B. T., DE JAGER, M., ZAURA, E. & KROM, B. P. 2014. Historical and contemporary hypotheses on the development of oral diseases: are we there yet? *Front Cell Infect Microbiol*, 4, 92.
- SAITAWEE, D., TEERAKAPONG, A., MORALES, N. P., JITPRASERTWONG, P. & HORMDEE, D. 2018. Photodynamic therapy of Curcuma longa extract stimulated with blue light against Aggregatibacter actinomycetemcomitans. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 22, 101-105.
- SAMPAIO, L. S., DE ANNUNZIO, S. R., DE FREITAS, L. M., DANTAS, L. O., DE BONI, L., DONATONI, M. C., DE OLIVEIRA, K. T. & FONTANA, C. R. 2020. Influence of light intensity and irradiation mode on methylene blue, chlorin-e6 and curcumin-mediated photodynamic therapy against Enterococcus faecalis. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 31, 101925.
- SANZ, M., MARCO DEL CASTILLO, A., JEPSEN, S., GONZALEZ-JUANATEY, J. R., D'AIUTO, F., BOUCHARD, P., CHAPPLE, I., DIETRICH, T., GOTSMAN, I., GRAZIANI, F., HERRERA, D., LOOS, B., MADIANOS, P., MICHEL, J. B., PEREL, P., PIESKE, B., SHAPIRA, L., SHECHTER, M., TONETTI, M., VLACHOPOULOS, C. & WIMMER, G. 2020. Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report. *J Clin Periodontol*, 47, 268-288.
- SATROM, K. D., MORRIS, M. A. & CRIGGER, L. P. 1987. Potential retinal hazards of visible-light photopolymerization units. *J Dent Res*, 66, 731-6.
- SCHÄR, D., RAMSEIER, C. A., EICK, S., METTRAUX, G., SALVI, G. E. & SCULEAN, A. 2020. Transgingival photodynamic therapy (tg-aPDT) adjunctive to subgingival mechanical instrumentation in supportive periodontal therapy. A randomized controlled clinical study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 32, 101971.
- SHEIHAM, A. & NICOLAU, B. 2005. Evaluation of social and psychological factors in periodontal disease. *Periodontol 2000*, 39, 118-31.
- SILVA TEÓFILO, M. Í., DE CARVALHO RUSSI, T. M. A. Z., DE BARROS SILVA, P. G., BALHADDAD, A. A., MELO, M. A. S. & ROLIM, J. P. M. L. 2021. The Impact of Photosensitizer Selection on Bactericidal Efficacy Of PDT against Cariogenic Biofilms: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 33, 102046.
- SORIA-LOZANO, P., GILABERTE, Y., PAZ-CRISTOBAL, M. P., PÉREZ-ARTIAGA, L., LAMPAYA-PÉREZ, V., APORTA, J., PÉREZ-LAGUNA, V., GARCÍA-LUQUE, I., REVILLO, M. J. & REZUSTA, A. 2015. In vitro effect photodynamic therapy with different photosensitizers on cariogenic microorganisms. *BMC Microbiol*, 15, 187.
- SOUKOS, N. S. & GOODSON, J. M. 2011. Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. *Periodontol 2000*, 55, 143-66.
- SUVAN, J., LEIRA, Y., MORENO SANCHO, F. M., GRAZIANI, F., DERKS, J. & TOMASI, C. 2020. Subgingival instrumentation for treatment of periodontitis. A systematic review. *J Clin Periodontol*, 47 Suppl 22, 155-175.
- TONON, C. C., PASCHOAL, M. A., CORREIA, M., SPOLIDÓRIO, D. M., BAGNATO, V. S., GIUSTI, J. S. & SANTOS-PINTO, L. 2015. Comparative effects of photodynamic therapy mediated by curcumin on standard and clinical isolate of Streptococcus mutans. *J Contemp Dent Pract*, 16, 1-6.

- TROMBELLI, L., FARINA, R., POLLARD, A., CLAYDON, N., FRANCESCHETTI, G., KHAN, I. & WEST, N. 2020. Efficacy of alternative or additional methods to professional mechanical plaque removal during supportive periodontal therapy: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*, 47 Suppl 22, 144-154.
- VIEIRA, A. R. & ALBANDAR, J. M. 2014. Role of genetic factors in the pathogenesis of aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*, 65, 92-106.
- WAINWRIGHT, M. & CROSSLEY, K. B. 2002. Methylene Blue--a therapeutic dye for all seasons? *J Chemother*, 14, 431-43.
- WAINWRIGHT, M., DAI, T. & HAMBLIN, M. R. 2011. Antimicrobial photodynamic therapy in the colon: delivering a light punch to the guts? *Photochemistry and photobiology*, 87, 754-756.
- WEBER, M., MEHRAN, Y. Z., ORTHABER, A., SAADAT, H. H., WEBER, R. & WOJCIK, M. [Anti-viral Photodynamic Therapy in Covid-19 Management: A Novel Approach in Treating Patients in Early Infection Stages], *Akupunkt Aurikulomed*. 2021;47(1):29-34. doi: 10.1007/s15009-021-5701-x. Epub 2021 Jan 1.
- WIKENE, K. O., HEGGE, A. B., BRUZELL, E. & TØNNESEN, H. H. 2015. Formulation and characterization of lyophilized curcumin solid dispersions for antimicrobial photodynamic therapy (aPDT): studies on curcumin and curcuminoids LII. *Drug Dev Ind Pharm*, 41, 969-77.
- WOOD, S., NATTRESS, B., KIRKHAM, J., SHORE, R., BROOKES, S., GRIFFITHS, J. & ROBINSON, C. 1999. An in vitro study of the use of photodynamic therapy for the treatment of natural oral plaque biofilms formed in vivo. *J Photochem Photobiol B*, 50, 1-7.

8 Danksagung

9 Tabellarischer Lebenslauf