



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.



# Untersuchungen zur mikrobiologischen, viruziden und antiviralen Wirksamkeit eines antiseptischen Präparates basierend auf Amylmetacresol, 2,4-Dichlorbenzylalkohol und Levomenthol

**Zusammenfassung.** In der vorliegenden Arbeit wurde die viruzide, antivirale und antimikrobielle Wirkung einer Wirkstoffmischung aus 2,4-Dichlorbenzylalkohol, Amylmetacresol und Levomenthol untersucht. Die Prüfung der viruziden Wirkung erfolgte entsprechend der Leitlinie der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) mit Hilfe von Vaccinia-, Adeno- und Poliovirus. Zur Untersuchung der antiviralen Wirkung wurden Interferenztests mit Coronavirus auf PT-Zellen durchgeführt.

Zur Prüfung der bakteriostatischen und levurostatischen Wirkung dienten Agardiffusionstests mit *Staphylococcus aureus* sowie ein multiresistenter Stamm dieses Keims (MRSA), ferner *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* und *Candida albicans*.

Gegenüber Vacciniavirus konnte eine Wirkung gemessen werden, die mit einem Reduktionsfaktor von  $> 4$  log-Stufen die Kriterien eines Desinfektionsmittels für Schleimhautoberflächen erfüllt und so eine umfassende Wirkung gegen andere behüllte Viren nahelegt. Gegenüber unbehüllten Viren erwies sich die Formulierung dagegen als nicht wirksam. Ebenso konnten keine antivirale und damit intrazelluläre Wirkung nachgewiesen werden.

Die unverdünnte Wirkstofflösung zeigte gegenüber allen geprüften Bakterienstämmen, insbesondere jedoch gegenüber *S. aureus* sowie gegenüber dem MRSA-Stamm eine deutliche Wirkung, vor allem jedoch gegenüber *C. albicans*.

Die Ergebnisse legen nahe, dass die Rezepturkomponenten der geprüften Wirkstoffmischung zur Erzielung einer antiseptischen Wirksamkeit in Dosierung wie im Mischungsverhältnis optimal eingestellt sind. Die gemessene Wirkung scheint rein topischer Natur zu sein. Die nicht nachweisbare antivirale Wirkung lässt das Eindringen der Wirkstoffe in Schleimhautzellen als unwahrscheinlich erscheinen.

**Schlüsselwörter.** Amylmetacresol, 2,4-Dichlorbenzylalkohol, Levomenthol, antiviral, viruzid, mikrobiostatisch.

## Einleitung

Als Erreger von Infektionen der Atemwege sowie von Mund- und Rachenraum kommen Bakterien, Hefen und verschiedene Viren in Betracht. Bei den bakteriellen Erkrankungen und Hefen stehen Erreger wie Streptokokken, Staphylokokken, Klebsiellen, *Haemophilus influenzae*, *Candida albicans* und andere als Erreger einfacher Atemwegserkrankungen im Vordergrund. Bei den Viren findet man Angehörig aus der Gruppe der behüllten und unbehüllten Viren. Die gefährlichste Atemwegserkrankung ist die Influenza A, während das Krankheitsbild des banalen Schnupfens vor allem durch unterschiedliche Typen von Coronaviren verursacht wird, die

deshalb zu den häufigsten Erregern viraler Atemwegsinfektionen zählen. Zusammen mit einigen weiteren Erregern, wie beispielsweise dem Respiratory Syncytial Virus (RSV) oder den Parainfluenzaviren, handelt es sich bei allen genannten Viren um behüllte Partikel. Nahezu alle diese Atemwegserkrankungen beziehen auch den Oropharynx ein, oft mit Symptomen wie Halsentzündung und Schluckbeschwerden, und neigen zu epidemieartiger Ausbreitung. Insbesondere unter Säuglingen, Kleinkindern und Senioren können sie lebensbedrohende Verläufe nehmen. Dies gilt vor allem für die Influenza A. Die therapeutischen Möglichkeiten für bakterielle Erkrankungen sind im

allgemeinen gut, bei viralen Erregern dagegen begrenzt. Hier gibt es insgesamt nur wenige Mittel, die therapeutisch wie prophylaktisch zur Verfügung stehen, wobei deren Wirksamkeit auf unterschiedlichen Prinzipien basiert. Die einfachste Wirkungsweise nutzt die *Barrierefunktion*. Die Substanz selbst ist daher weder gegenüber Viren noch gegenüber den Wirtszellen aktiv. Die Wirkung beruht vielmehr auf der Bildung eines protektiven Films auf den Oberflächen der Zielzellen, so dass die Adsorption der Erreger eingeschränkt oder ganz verhindert wird. Dagegen beruht die *antivirale Wirksamkeit* auf der intrazellulären Wirkung eines Mittels, wobei die fragliche Substanz von den betreffenden Zellen

aufgenommen und im Zellinneren den Replikationszyklus des Virus inhibiert. Dies kann z. B. in der Phase der Penetration, des Uncoatings, der Synthese und ggf. auch der Zusammensetzung und Ausschleusung der Viruspartikel geschehen. Eine Sonderform der antiviralen Wirkung wird über die Induktion von Interferonen vermittelt. Dabei regt die Substanz Körperzellen zur Bildung von Interferonen an, die wiederum ihrerseits in einer kaskadenförmigen Reaktion in die Synthese antiviraler Proteine auslösen. Interferoninduktoren werden also selbst nicht intrazellulär aufgenommen.

Als *viruzide Wirksamkeit* bezeichnet man schließlich die Inaktivierung von Viruspartikeln außerhalb von deren Wirtszellen. Klassische viruzide Substanzen für die Anwendung im Umfeld eines Patienten sind Desinfektionsmittel (v. Rheinbaben, 2002). Wird dagegen eine Desinfektionswirkung auf Schleimhäuten angestrebt, so verwendet man antiseptische Formulierungen. An diese werden im Hinblick auf die orale und dermale Toxizität hohe Anforderungen gestellt, und deren Dosierung muss so gewählt werden, dass die gewünschte Wirksamkeit zwar erzielt, alle toxikologischen Kriterien aber ebenfalls eingehalten werden.

Das Wirkungsprinzip gegenüber Bakterien beruht dagegen auf den mikrobistatischen oder mikrobiziden Eigenschaften der betreffenden Substanzen und setzt im allgemeinen ein Eindringen in die Zellen der Erreger voraus.

In der hier vorgestellten Untersuchung wurde die mikrobistatische, viruzide und antivirale Wirksamkeit einer Halstablette, basierend auf einer Kombination der Wirkstoffe Amylmetacresol (0,6 mg), 2,4-Dichlorbenzylalkohol (1,2 mg) und Levomenthol (5,72 mg), getestet. Die Wirkstoffformulierung ist zur Anwendung in der Mundhöhle zur unterstützenden Behandlung bei Entzündungen der Rachenschleimhaut, die mit Halsschmerzen, Rötung oder Schwellung der Schleimhaut einhergeht, für Erwachsene sowie für Kinder ab 6 Jahren zugelassen. Sie wird als Halstablette zum Lutschen appliziert und ist als OTC-Präparat frei verfügbar, jedoch apothekenpflichtig. Eine derartige Formulierung kann ohne ärztliche

Kontrolle appliziert werden und muss deshalb in besonderer Weise toxikologischen Anforderungen entsprechen.

## Material und Methode

### Testsubstanz

Tabletten in Blisterverpackung; 1 Tablette enthält: 1,20 mg 2,4-Dichlorbenzylalkohol + 0,60 mg Amylmetacresol + 5,72 mg Levomenthol (neo-angin® Halstabletten zuckerfrei). Die Anwendung am Patienten erfolgt nach Herstellerangabe bei Bedarf alle 2 bis 3 h, jedoch täglich mit nicht mehr als 6 mal innerhalb von 24 Stunden.

### Testviren und Zellkulturen

- Vaccinia Virus Stamm Elstree, angezüchtet und titriert auf CCL-81 Zellen (Vero-Zellen), Titer  $\sim 10^{7,5}$  ID<sub>50</sub> / 0,1 ml
- Adenovirus, Typ 5, angezüchtet und titriert auf CCL-2 (HeLa-Zellen), Titer  $10^{6,7}$  ID<sub>50</sub> / 0,1 ml
- Poliovirus, Typ 1, angezüchtet und titriert auf CCL-2 (HeLa-Zellen), Titer  $10^{6,75}$  log<sub>10</sub>-TCID<sub>50</sub> / ml
- Coronavirus, (Bezugsquelle ATCC), angezüchtet und titriert auf PT-Zellen, Titer  $10^{6,5}$  ID<sub>50</sub> / 0,1 ml

### Mikroorganismen

- *Staphylococcus aureus*, ATCC 6538, Anzucht auf Casein-Soja Agar, Bebrütung 24 h bei 35 °C, Titer eingestellt auf  $10^{4,1}$  KBE / ml
- *Staphylococcus aureus* **MRSA**, ATCC 33592, Anzucht auf Casein-Soja Agar, Bebrütung 24 h bei 35 °C, Titer eingestellt auf  $10^{3,97}$  KBE / ml
- *Klebsiella pneumoniae*, ATCC 13883, Anzucht auf Casein-Soja Agar, Bebrütung 24 h bei 35 °C, Titer eingestellt auf  $10^{3,77}$  KBE / ml
- *Streptococcus pyogenes*, ATCC 12344, Anzucht unter mikroaerophilen Bedingungen auf CSL Agar, Bebrütung 24 h bei 35 °C, Titer eingestellt auf  $10^{3,13}$  KBE / ml
- *Candida albicans*, ATCC 10231, Anzucht auf Sabouraud-Dextrose-4%-Agar, Bebrütung 72 h bei 25 °C, Titer eingestellt auf  $10^{4,39}$  KBE / ml

## Zytotoxizitätstest

Zur Ermittlung der Zytotoxizität wurde eine Halstablette der Blisterverpackung entnommen und zunächst in 10 ml Wasser standardisierter Härte (WSH) gelöst. Die so gewonnene Stocklösung wurde unverdünnt sowie in weiteren Verdünnungen der Progression 1: 10 / 100 / 1000...bis  $10^{-8}$  verwendet. Zur Ermittlung der Zytotoxizität wurden pro Verdünnungsstufe jeweils 6 Kavitäten einer Mikrotiterplatte mit vorinkubierten Zellen beimpft. Das Ablesen der zytotoxischen Grenzkonzentration erfolgte nach 3 Tagen sowie nach einer Woche. Eine permanente Behandlung der Zellen mit der Stocklösung wie auch mit der 1:10 weiter verdünnten Stocklösung zeigte nach 24 h Unverträglichkeitsreaktionen. Die Zellen erholten sich jedoch wieder und begannen sich etwa 2 Tage später erneut zu teilen (dies galt jedoch nur für Tests zur Ermittlung der Viruzidie, s. u.). Dagegen zeigte eine Kurzzeitbehandlung von Zellkulturen über die Dauer von 30 min (wie dies bei den Interferenztest stattfand, s. u.) keine zytotoxischen oder Unverträglichkeitsreaktionen.

## Viruzidietest

Die Bestimmung der viruziden Wirksamkeit erfolgte entsprechend der Leitlinie der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV, 2008). Dazu wurde jeweils eine Halstablette in 10 ml Wasser standardisierter Härte (WSH) gelöst und 8 Volumenteile der so gewonnenen Stocklösung mit 1 Volumenteil der jeweiligen Virussuspension und einem Teil Aqua bidest. versetzt. Die weitere Verdünnung des Ansatzes erfolgte nach den jeweiligen Kontaktzeiten entsprechend der Progression 1: 10 / 100 / 1000...bis  $10^{-8}$ . Die Virustitration erfolgte im Mikrotitrationsverfahren auf 96-well-Platten. Pro Verdünnungsstufe wurden jeweils 6 Kavitäten mit vorinkubierten Zellen beimpft.

## Interferenztest

Die Untersuchungen zur Interferenz / Interferoninduktion wurden im Mikrotitrationsassay mit bovinem Coronavirus durchgeführt. Zum Nachweis der Induktion einer Interferenz wurden PT-Zellen in 96-well

Mikrotiterplatten angezchtet. Die konfluenten Zellkulturen wurden mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) gewaschen und anschließend mit jeweils 100 µl der Stocklösung wie auch der 10<sup>-1</sup> und 10<sup>-2</sup> weiter verdünnten Wirkstofflösung während 30 min vorinkubiert. Danach wurden die Zellen erneut mit PBS gewaschen und mit Virussuspension, die zuvor entsprechend der Progression 1:10 / 100 / 1000...bis 10<sup>-8</sup> verdünnt worden waren, beimpft, wobei pro Verdünnungsstufe jeweils 8 Kavitäten der Mikrotiterplatte beschriftet wurden. Das Ablesen des Virustiters erfolgte nach 3 Tagen sowie nach einer Woche. Als Kontrolle fungierten Zellen derselben Zelllinie, bei denen anstelle der Wirkstofflösung mit Zellkulturmedium vorbehandelt wurde.

### Agardiffusionstest

Die Untersuchung zur Ermittlung der mikrobistatischen Wirksamkeit erfolgte im Agardiffusionstest mit Stanzlöchern. Dafür wurde 1 ml der jeweiligen Prüfkeimsuspension in eine sterile Petrischale pipettiert und mit flüssigem Casein-Soja Agar übergossen. Für den Prüfkeim *Streptococcus pyogenes* wurde Columbia-Agar mit einem Anteil von 5% Schafblut verwendet. Nach Erstarren des Agars wurden in die ausgehärteten Agarplatten mit Hilfe eines Stanzrohres Löcher mit einem Durchmesser von 1 cm gestanzt und diese mit Prüfösung gefüllt. Dafür wurden die Lutschtabletten in jeweils 10 ml WSH gelöst. Um die Diffusion auch schwerlöslicher Rezepturbestandteile zu verbessern, wurde zusätzlich ein Ansatz

mit einem 4% Ethanol-Anteil als Lösungsvermittler in den 10 ml WSH untersucht. Die Prüfungen wurden pro Prüfkeim in Doppelbestimmung durchgeführt. Nach Ablauf der Bebrütungszeit wurde die Breite der jeweiligen Hemmhofzone um das Stanzloch mit Hilfe eines Lineals gemessen. Als Negativkontrolle diente jeweils Wasser standardisierter Härte (WSH) mit und ohne 4% Ethanol-Zusatz, sowie eine Placebo-Rezeptur, die lediglich aus den Hilfsstoffen, jedoch ohne Dichlorbenzylalkohol, Amylmetacresol und Levomenthol, bestand. Da die Darreichungsform einer Haltablette für eine derartige Prüfung stets deren Auflösung in Wasser erforderlich macht, wurde zusätzlich auch eine Wirkstofflösung, bestehend aus Dichlorbenzylalkohol, Amylmetacresol und Levomenthol im gleichen Mischungsverhältnis wie in der Halstablette (Laboraufmischung) untersucht.

## Ergebnisse

### Viruzide Wirksamkeit

Die Kombination, bestehend aus Amylmetacresol, 2,4-Dichlorbenzylalkohol und Levomenthol, erwies sich im DVV Virussuspensionstest nach den Leitlinien der DVV (2008) als gut wirksam gegenüber Vacciniavirus und kann entsprechend dieser Leitlinie als viruzid eingestuft werden. Die Exposition des Präparates führt schon bei Raumtemperatur und einer Kontaktzeit von 10 min zu einer

Titerreduktion von mehr als 6 Zehnerpotenzen. In Gegenwart einer Schmutzbelastung mit 10% Serum war die Wirkung deutlich geringer, betrug bei Raumtemperatur jedoch immer noch mindestens 2,88 Zehnerpotenzen. Bei 30 °C erwies sich die Rezeptur dagegen auch in Gegenwart einer zusätzlichen Serumbelastung in unverdünnter Lösung nach 5 bis 10 min als hochwirksam (Tab. 1). Unter Temperaturbedingungen, wie sie im Mund und Rachenraum herrschen, kommt der Einfluss der Eiweißbelastung somit nicht zum Tragen.

Gegenüber nackten Viren, geprüft am Beispiel von Adenovirus und Poliovirus, erwies sich das Präparat als nicht wirksam. Bei 80%iger Anwendungskonzentration, Virusausgangstitern von mindestens 10<sup>6,5</sup> log<sub>10</sub>-TCID<sub>50</sub> /ml und Einwirkungszeiten von insgesamt 15 min konnte keine signifikante Titerreduktion nachgewiesen werden.

### Antivirale Wirksamkeit

Die Ergebnisse zur antiviralen Wirksamkeit der untersuchten in Konzentration von 10<sup>-1</sup>, (Tablettenlösung) sowie 10<sup>-2</sup> und 10<sup>-3</sup> sind in Tab. 2 dokumentiert. Sie zeigen, dass eine 30minütige Vorinkubation der Kulturzellen mit der Wirkstoffmischung zu keiner Inhibierung der Virusreplikation führt. Sowohl bei unbehandelten als auch mit der Wirkstoffkombination vorbehandelten Zellen unterscheiden sich die gemessenen Virustiter nicht signifikant.

**Tabelle 1.** Viruzide Wirkung der untersuchten Wirkstoffkombination im Suspensionstest nach DVV (Stand 2008) mit 10% Fötalem Kälberserum (FKS) bei Raumtemperatur und 30 °C sowie ohne Belastung, geprüft am Beispiel von Vacciniavirus.

| Kategorie                      | Belastung                            | Anwendungsparameter<br>AWK / EWZ             | Reduktionsfaktor<br>[log 10] |
|--------------------------------|--------------------------------------|--|------------------------------|
| Vacciniavirus<br>Stamm Elstree | Ohne Belastung<br>bei Raumtemperatur | 80% / 3 min                                  | 1,87 ± 0,63                  |
|                                |                                      | 80% / 5 min                                  | 2,50 ± 0,52                  |
|                                |                                      | 80% / 7 min                                  | 3,00 ± 0,50                  |
|                                |                                      | 80% / 10 min                                 | ≥ 6,00 ± 0,35                |
|                                |                                      | 80% / 15 min                                 | ≥ 6,00 ± 0,35                |
|                                |                                      | Mit 10% Serumbelastung<br>bei Raumtemperatur | 80% / 3 min                  |
|                                | 80% / 5 min                          | 2,25 ± 0,45                                  |                              |
|                                | 80% / 7 min                          | 1,88 ± 0,53                                  |                              |
|                                | 80% / 10 min                         | ≥ 2,88 ± 0,57                                |                              |
|                                | 80% / 15 min                         | ≥ 2,88 ± 0,53                                |                              |
|                                | Mit 10% Serumbelastung<br>bei 30 °C  | 90% / 5 min                                  | ≥ 4,00                       |
|                                | 80% / 10 min                         | ≥ 4,00                                       |                              |

**Tabelle 2.** Untersuchung zur antiviralen Wirkung der untersuchten Wirkstoffkombination (Stocklösung = Wirkstofflösung gelöst in 10 ml sowie  $10^{-1}$  und  $10^{-2}$  verdünnte Stocklösung): Ergebnisse der Titration von Coronavirus nach einer 30 min. Vorinkubation der Prüflösungen auf PT-Zellen im Vergleich zu unbehandelten Zellkulturen. Dargestellt ist die Anzahl viruspositiver Zellkulturen zur Gesamtzahl infizierter Zellkulturen für die jeweiligen Verdünnungsstufen.

| Behandlung der Kulturzellen                                      | Virusverdünnungen, ausgeimpft auf PT-Zellen<br>(dargestellt: Anzahl positiver Kulturen zur Gesamtzahl infizierter Kulturen) |           |           |           |           |           |           |           | Zellkontrolle | Virustiter TCID <sub>50</sub> / ml [log] |
|--|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------|--|
|  | $10^{-1}$   | $10^{-2}$ | $10^{-3}$ | $10^{-4}$ | $10^{-5}$ | $10^{-6}$ | $10^{-7}$ | $10^{-8}$ |               |  |
| Wirkstofflösung, gelöst in 10 ml                                 | 8/8   | 8/8       | 8/8       | 8/8       | 8/8       | 8/8       | 1/8       | 1/8       | vital         | ~ 6,50                                   |
| Wirkstofflösung 1:10 weiter verdünnt                             | 8/8   | 8/8       | 8/8       | 8/8       | 8/8       | 8/8       | 0/8       | 0/8       | vital         | ~ 6,50                                   |
| Wirkstofflösung 1:100 weiter verdünnt                            | 8/8   | 8/8       | 8/8       | 8/8       | 8/8       | 8/8       | 0/8       | 0/8       | vital         | ~ 6,50                                   |
| Kontrolltitration auf mit Zellkulturmedium vorbehandelten Zellen | 8/8   | 8/8       | 8/8       | 8/8       | 8/8       | 7/8       | 1/8       | 0/8       | vital         | ~ 6,50                                   |

### Mikrobiologische Wirksamkeit

Die Ergebnisse der Untersuchungen zur mikrobiologischen Wirksamkeit zeigt **Tabelle 3**. Hier sind die erzielten Breiten der Hemmzonen um die Stanzlöcher in den jeweiligen Agarplatten für die jeweiligen Keime wiedergegeben. Da die Versuche im Doppelansatz durchgeführt wurden, sind jeweils zwei Messwerte aufgeführt.

Die Untersuchung zeigt, dass die reine Wirkstoffkombination in Gel-artiger Zubereitung, die so in ihrer Originalkonzentration und ohne weitere Verdünnung geprüft werden konnte, eine gute antimikrobielle Wirkung besitzt. Die zu messenden Hemmhofbreiten lagen mit maximal 22 mm im obersten überhaupt gemessenen Bereich.

Neben der bakteriostatischen Wirkung konnte für die reine Wirkstofflösung

auch eine sehr gute levurostatische Wirkung gegen *Candida albicans* gezeigt werden. Die hier zu messenden Hemmhöfe waren sogar deutlich ausgeprägter als bei den untersuchten Bakterien.

Dagegen erscheint das Ergebnis der Halstablettzubereitungen zunächst missverständlich. Da in der vorliegenden Versuchsanordnung eine Halstablette jedoch zunächst in Wasser gelöst werden muss und so deren 1:10 Vorverdünnung nicht umgangen werden kann, zeigt das Ergebnis, dass bereits bei dieser Verdünnung die minimale Hemmkonzentration für die untersuchten Prüfkeime unterschritten wird. Alle Kontrolluntersuchungen, in denen nur das Lösungsmittel Wasser standardisierter Härte (WSH) bzw. WSH mit 4% Ethanol alleine gegen die jeweiligen Prüfkeime getestet wurden, ließen bei keinem der 5 getesteten

Prüfkeime Hemmhöfe erkennen (Durchmesser der Hemmzone um das Stanzloch: 0 mm). Auch ein Placebo-Präparat zeigten erwartungsgemäß keine Wirkung und unterschied sich so in keinem Wert von denen der Negativkontrollen (**Tab. 3**).

### Diskussion

In der hier berichteten Untersuchung konnte die bakteriostatische, levurostatische, ebenso auch die Wirkung gegen behüllte Viren einer Wirkstoffmischung aus 2,4-Dichlorbenzylalkohol, Amylmetacresol und Levomenthol nachgewiesen werden. Dabei ist vor allem die hohe Wirkung gegen behüllte Viren hervorzuheben, sowie die gute levurostatische Wirkung gegen *Candida albicans*. Dies macht das Wirkstoffgemisch besonders geeignet für

**Tabelle 3.** Prüfung verschiedener Zubereitungen einer Wirkstoffmischung aus Amylmetacresol, Dichlorbenzylalkohol und Levomenthol bzw. Placebo, gelöst in Wasser standardisierter Härte mit und ohne einem 4% Ethanol-Zusatz, im Hemmhofstest (WSH = Wasser standardisierter Härte).

| Prüfmuster                    | Gelöst in        | Prüfkeime             |                       |                       |                        |                  |
|-------------------------------|------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|------------------|
|                               |                  | Staphylococcus aureus | S. aureus, MRSA-Stamm | Klebsiella pneumoniae | Streptococcus pyogenes | Candida albicans |
| Gel, unverdünnt               | WSH              | 10 mm / 11 mm         | 10 mm / 11 mm         | 3 mm / 3 mm           | 14 mm / 15 mm          | 19 mm / 22 mm    |
|                               | WSH + 4% Ethanol | 11 mm / 11 mm         | 11 mm / 11 mm         | 3 mm / 3 mm           | 20 mm / 16 mm          | 18 mm / 21 mm    |
| Halstablette, gelöst in 10 ml | WSH              | 0 mm / 0 mm           | 0 mm / 0 mm           | 0 mm / 0 mm           | 0 mm / 0 mm            | 0 mm / 0 mm      |
|                               | WSH + 4% Ethanol | 0 mm / 0 mm           | 0 mm / 0 mm           | 0 mm / 0 mm           | 0 mm / 0 mm            | 0 mm / 0 mm      |
| Placebo, gelöst in 10 ml      | WSH              | 0 mm / 0 mm           | 0 mm / 0 mm           | 0 mm / 0 mm           | 0 mm / 0 mm            | 0 mm / 0 mm      |
|                               | WSH + 4% Ethanol | 0 mm / 0 mm           | 0 mm / 0 mm           | 0 mm / 0 mm           | 0 mm / 0 mm            | 0 mm / 0 mm      |

die Anwendung gegen virusbedingte Halsentzündungen sowie gegen den häufigsten Erreger oraler Candidosen. Zusammen mit der ebenfalls beobachteten bakteriostatischen Wirkung kann nicht nur ein Einfluss gegen bakterielle Erreger von Halsentzündungen in vitro festgestellt werden, sondern es steht zu vermuten, dass man im Falle von viralen Infektionen auch das Auftreten bakterieller Superinfektionen durch Erreger der natürlichen Schleimhautflora minimieren kann (z. B. *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* u.a.). Gegenüber unbehüllten Viren zeigt sich eine Wirkungslücke der geprüften Wirkstoffkombination, so dass in diesen Fällen kein direkter Einfluss der Zubereitung zu erwarten ist. Da dies jedoch nur vergleichsweise wenige Virusarten betrifft, deren hauptsächliche Krankheitsbilder sich nach einer Initialphase im Rachenraum zu einer Enteritis entwickeln, bisweilen sogar mit der Tendenz zu einer virämischen Phase, wäre die Anwendung einer Halstablette zur Bekämpfung dieser Infektionen insgesamt kaum erfolgversprechend. Untersuchungen zur Barrierewirkung der Rezeptur wurden nicht durchgeführt. Dagegen lassen die Ergebnisse der Untersuchung zur antiviralen Wirkung den Schluss zu, dass intrazelluläre Effekte über Interferone oder durch direkte Interferenz in den Replikationszyklus nicht stattfinden. Eine derartige Wirkung wäre zwar ebenfalls zu begrüßen gewesen, sie würde jedoch auch zeigen, dass man mit einem Eindringen der Substanzen in Schleimhautepithelzellen rechnen muss. Auch wenn dies trotz der vorliegenden Ergebnisse immer noch nicht völlig ausgeschlossen werden kann, so ist eine tiefere Penetration in Schleimhautoberflächen auf Grund unseres Befundes unwahrscheinlich. Aus toxikologischer Sicht wäre eine fehlende Penetration des Wirkstoffgemisches in Schleimhautzellen aber keinesfalls als Nachteil auszulegen. Die untersuchte Wirk- und Hilfsstoffkombination wird in Form einer Halstablette zum Lutschen appliziert und ist mit ihrem Wirkstoffgehalt offensichtlich sehr exakt auf diese Applikation eingestellt worden. Bei ihrer

Anwendung befindet sich die Tablette in unmittelbarem Kontakt zur Mundschleimhaut und wird dort durch den Speichel gelöst. Die so lokal erzielbaren Wirkstoffkonzentrationen entsprechen nahezu der Konzentration in der Lutschtablette selbst. Sie sind in jedem Falle höher als in unserem in vitro-Modell simulierbar. Zur Erzielung der mikrobiziden Wirkung werden die Inhaltsstoffe von Halstabletten meist so bemessen, dass sie innerhalb der Applikation, d.h. während der Dauer des Lutschens, die Konzentration pathogener Bakterien in Mundhöhle und Pharynx signifikant reduzieren und / oder eine weitere Keimzunahme verhindern sollen. Löst man die Tablette 1:10, so liegt die bakteriostatische und fungistatische Wirksamkeit in unserer Versuchsanordnung jenseits der wirksamen Schwellenkonzentration. Durch die im Mundraum herrschenden Temperaturbedingungen von über 30 °C wird die viruzide Wirksamkeit auch in Anwesenheit von Eiweiß deutlich verstärkt. Die Halstabletten mit der untersuchten Wirkstoffkombination sollen alle zwei bis 3 Stunden angewendet werden, jedoch täglich nicht mehr als 6 Tabletten. So soll durch die Bekämpfung der Erreger und durch die Verhinderung der weiteren Keimzunahme die körpereigene Abwehr unterstützt und gestärkt werden und so letztlich neben der unmittelbaren therapeutischen Wirkung auch eine nachhaltige und protektive Wirksamkeit erreicht werden. Vom Hersteller muss allerdings berücksichtigt werden, dass sich der Anwender nicht immer an diese Vorgabe hält. Dies kann vor allem bei starken Beschwerden vorkommen und würde dann sogar eine besonders sensibilisierte / geschädigte Schleimhautoberfläche betreffen. Eine möglichst geringe Dosierung, die jedoch zu der gewünschten Wirkung führt, ist daher notwendig und in unserer Versuchsanordnung nachgewiesen. Sogar eine regelmäßige prophylaktische Anwendung zur Verhinderung oraler Candidosen zum Beispiel bei Senioren und / oder Zahnprothesenträgern wäre vorstellbar. Schließlich wäre zu prüfen, ob eine derartige Formulierungen sich nicht auch unterstützend bei der

Sanierung von MRSA-Trägern anwenden lässt.

## Weiterführende Literatur

- [1] Arbeitskreis Viruzidie, Stellungnahme des Arbeitskreises Viruzidie beim Robert-Koch-Institut (RKI) sowie des Fachausschusses „Virusdesinfektion“ der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) und der Desinfektionsmittelkommission der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM): Prüfung und Deklaration der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln gegen Viren, Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz 47 (2004) 62–66.
- [2] Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV), Leitlinie der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten und des Robert Koch-Instituts (RKI) zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel auf Wirksamkeit gegen Viren in der Humanmedizin, Bundesgesundheitsb. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz 51 (2008) 937–945.
- [3] Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV), Leitlinie der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) e.V. und des Robert Koch-Instituts (RKI) zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren in der Humanmedizin. Fassung vom 1. Dezember 2014, Bundesgesundheitsblatt 58 (2015) 491–504.
- [4] F. v. Rheinbaben, M.H. Wolff, Handbuch der viruswirksamen Desinfektion, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 2002.
- [5] F. v. Rheinbaben, Synergistic antibacterial, antiviral, yeasidical and anti-inflammatory effects: Evidence for unique efficacy profile, Thieme Drug Report 10 (13) (2016) 4–10.
- [6] A. Schwarzkopf, Tabellarium menschenpathogener Erreger, Support-Verlag, Aura, 2015.

## Korrespondenzautor:

PD Dr. rer. nat. Dr. med. habil. Friedrich von Rheinbaben  
HygCen Germany GmbH  
Bornhövedstraße 78  
19055 Schwerin  
Tel.: +49 (0) 385 5682 65  
Fax: +49 (0) 385 5682 67  
E-Mail: [rheinbaben@hygcn.de](mailto:rheinbaben@hygcn.de)