

P.H. Warnke^{1,2}, R. Podschun³, J. Wiltfang¹, I.N.G. Springer¹, E. Behrens¹, S.T. Becker¹

Ätherische Öle: Antimikrobielle Wirkungen und potentielle Anwendungsoptionen in der Implantologie

Durch die kontinuierlich zunehmende Anzahl von Implantatversorgungen treten auch vermehrt periimplantäre Infektionen als unangenehme Komplikationen auf. Bisher existiert dafür kein allseits überzeugendes und generell akzeptiertes Behandlungsschema. Die Suche nach alternativen Behandlungsoptionen ist ein Gebiet der implantologischen Forschung.

Die vorliegende Pilotstudie soll antimikrobielle Eigenschaften von natürlichen ätherischen, essentiellen Ölen prüfen, denen in der Literatur antimikrobielle und antiinflammatorische Effekte zugeschrieben werden. Die Ergebnisse sollen orientierend für die Entwicklung potentieller neuer Therapiekonzepte auf der Basis ätherische Öle in der Implantologie sein.

Es wurden Eukalyptus-, Teebaum-, Thymian-, Lemon-, Lemongrass- und Nelkenöl mit dem mikrobiologischen Agardiffusionstest gegen klinisch relevante Keime und multiresistente Problemisolate getestet. Ebenfalls wurden Ölkombinationen geprüft. Als Kontrolle dienten Ethanol (70 %), Betaisodona, Chlorhexidin sowie Oliven- und Paraffinöl.

Die getesteten ätherischen Öle zeigten deutliche antimikrobielle Wirkungen gegen Staphylokokken, Streptokokken und Candida. Insbesondere ist die uneingeschränkte Wirkung gegen multiresistente klinische Problemkeime, wie MRSA und Candida krusei, hervorzuheben. Die antiinflammatorischen Eigenschaften ätherischer Öle stellen zudem einen Vorteil gegenüber den klassischen Antiseptika dar. Die getesteten Öle werden vollkommen natürlich hergestellt und sind kostengünstig verfügbar. Sollte sich die vermutete antimikrobielle Wirkung auch gegen die Leitkeime der Periimplantitis bestätigen, könnten ätherische, essentielle Öle in Zukunft eine Alternative in der lokalen Behandlung periimplantärer Infektionen darstellen.

Schlüsselwörter: Ätherische Öle, essentielle Öle, antimikrobiell, Periimplantitis, multiresistente Erreger, MRSA, Antiseptika

Essential oils: antimicrobial effects and potential treatment options in dental implantology

Due to the steadily increasing numbers of dental implants placed, the number of peri-implant infections is also growing. To date, there is no standard and generally accepted regimen for treating peri-implant infections. The search for alternative treatment options is ongoing. This pilot study focuses on the antimicrobial effects of essential oils as their antimicrobial and anti-inflammatory effects have recently been highlighted in literature. The results may offer potential treatment options for peri-implant infections based on natural essential oils. Eucalyptus, tea tree, white thyme, lemon, lemongrass, clove bud oil and oil combinations were tested in the agar diffusion test against clinically relevant strains and multi-resistant nosocomial isolates. Ethanol, povidone iodine, chlorhexidine as well as olive and paraffin oil served as controls. The essential oils tested showed clear antimicrobial effects against staphylococci, streptococci and candida. In particular, the absolute impact on multi-resistant strains such as MRSA and Candida krusei should be stressed. The anti-inflammatory properties of essential oils may be advantageous in dental implantology compared to classic antiseptics. Essential oils can be produced naturally and cost-effectively. If the suspected antimicrobial effects can be confirmed against the dominant strains in peri-implant infections, essential oils may offer an alternative in the local treatment of these infections.

Keywords: Essential oils, antimicrobial, peri-implant infection, multi-resistant strains, MRSA, antiseptics

¹ Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Deutschland

² Faculty of Health Sciences and Medicine, Bond University, QLD, Gold Coast, Australien

³ Institut für Infektionsmedizin, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Deutschland

¹ Department of Oral and Maxillofacial Surgery, University of Kiel, Germany

² Faculty of Health Sciences and Medicine, Bond University, QLD, Gold Coast, Australia

³ Institute of Infection Medicine, University of Kiel, Germany

Übersetzung: LinguaDent

Einleitung

Die Insertion von Zahnimplantaten ist heute ein gängiges Routineverfahren in der zahnärztlichen Praxis. Die Versorgung mit Zahnimplantaten ermöglicht eine perfekte ästhetische Rekonstruktion mit optimal möglicher Kaufunktion nach Zahnverlust. Moderne Zahnimplantate besitzen meist bioinerte Titanoberflächen und haben Einheilungsraten von über 97 % [25].

Ein Problem sind jedoch mögliche periimplantäre Infektionen, wie sie auch als parodontale Tascheninfektion beim natürlichen Zahn vorkommen. Periimplantäre Infektionen betreffen das implantatumgebende Gewebe. Hierbei wird zwischen einer „periimplantären Mucositis“ und einer „Periimplantitis“ unterschieden. Erstere bezeichnet eine reversible Entzündung des Weichgewebes. Bei fortschreitender chronischer Entzündung mit ausgeprägten submarginalen Plaqueakkumulationen kann die Periimplantitis entstehen, die durch den irreversiblen progredienten Knochenverlust zusätzlich zur Weichgewebsinfektion gekennzeichnet ist. Die Entwicklung einer periimplantären Infektion bedeutet aber nicht zwangsläufig, dass die Infektion unvermeidlich zu einem Implantatverlust führt, sofern rechtzeitig eine Behandlung eingeleitet wird. Hier unterscheiden sich osseointegrierte Zahnimplantate der Mundhöhle von Gelenkendoprothesen aus Titan in der orthopädischen Chirurgie. Infizieren sich letztere, dann müssen diese trotz mehrwöchiger Breitbandantibiose oft entfernt werden [19].

Verschiedene Therapiekonzepte der periimplantären Infektionen von Zahnimplantaten werden auf den Fachkongressen teilweise kontrovers diskutiert, so dass bis heute kein einheitliches, standardisiertes und allseits anerkanntes Therapiekonzept besteht. Wurde bis Ende der 90er Jahre wie bei orthopädischen Implantatinfektionen auch mit ungezielter mehrwöchiger Breitbandantibiose (z. B. Tetracyclin und Metronidazol) behandelt, gilt nun in Anlehnung an natürliche Zahntascheninfektionen ein Konzept mit lokal entzündungshemmenden Medikamenteneinlagen nach Kürettage plus mehrwöchigen, täglich desinfizierenden Spülungen (z. B. Chlorhexidin) [21]. Photodynamische oder photothermische Beseitigung der Bakterienflora mit dem Laser scheinen vielversprechend zu sein [22], sind aber nicht jedem Behandler zugänglich und damit für ein realistisches Standardtherapiekonzept eventuell zu speziell. In der Regel ist die periimplantäre Besiedlung mit pathogenen Keimen die Ursache für die Infektion, kann aber durch weitere kausale Faktoren, z. B. ein Mangel keratinisierter Gingiva, begünstigt werden. In diesen Fällen ist die allein antiseptische Therapie nicht ausreichend und eine komplexe Behandlung mit mehreren Sitzungen zur Beseitigung aller begünstigenden Faktoren wird notwendig.

Behandlungsmisserfolge auch durch mangelnde Patientencompliance sind nicht selten und ein unterschätztes Problem. Die hochwertigste Therapie wird nicht greifen, wenn der Patient nicht mitarbeitet. Oft resultiert dadurch ein chronischer Verlauf der Infektion. Der Wechsel auf eine lokale und systemische Antibiose durch den Behandler geschieht häufig, um die wertvollen prothetischen Implantatkonstruktionen zu erhalten. Gerade die als Privatleistung erbrachten hohen Kosten der prothetischen Versorgung können ein Spannungsfeld zwischen Behandler und Patient aufbauen, wenn der Verlust droht. Der Patient sucht häufig die Fehler in der Qualität der Arbeit („was teuer bezahlt wird, das muss auch lange halten“). Somit wird

Introduction

The insertion of dental implants is a routine procedure in dentistry nowadays. Treatment with dental implants allows outstanding aesthetic reconstruction with optimal masticatory function following tooth loss. Modern dental implants usually have bioinert titanium surfaces and the healing rates are over 97 % [25].

However, peri-implant infections, similar to periodontal pocket infections with natural teeth, are a potential problem. Peri-implant infections involve the tissue surrounding the implant. A distinction is made between “peri-implant mucositis” and “peri-implantitis”. The former consists of reversible inflammation of the soft tissue. When chronic inflammation progresses with marked submarginal accumulation of plaque, peri-implantitis can develop; this is characterized by irreversible progressive bone loss in addition to the soft tissue infection. The development of peri-implant infection does not necessarily mean that implant loss is inevitable if provided treatment is commenced in time. Osseointegrated oral implants differ from titanium joint prostheses in orthopedic surgery. If the latter become infected, they must often be removed despite broad-spectrum antibiotic therapy for several weeks [19].

Different regimens for treating peri-implant infections have been presented at specialist conferences, some of them controversial, so that to date there is no uniform, standardized and generally accepted treatment regimen. Whereas non-specific broad-spectrum antibiotic therapy (e. g. tetracycline and metronidazole) was employed for several weeks up to the end of the 1990s, as in the case of infected orthopedic implants, a regimen based on the treatment of natural dental pocket infections and involving local insertion of anti-inflammatory medications following curetting plus disinfectant oral rinses (e. g. chlorhexidine) daily for several weeks is now accepted [21]. Laser photodynamic or photothermal elimination of the bacteria flora appears promising [22] but is not available to every clinician, so it may be too specialized to be considered a standard treatment. Peri-implant colonization with pathogenic micro-organisms is usually the cause of the infection, but this can be encouraged by other causal factors, e. g. a lack of keratinized gingiva. In these cases, antiseptic treatment on its own is insufficient and complex treatment with several sessions to eliminate all the promoting factors becomes necessary.

Treatment failures due to poor patient compliance are not rare and are an underestimated problem. The best treatment will not be effective if the patient does not cooperate. This often results in the infection becoming chronic. The clinician often switches to local and systemic antibiotic therapy in order to preserve the valuable prosthetic implant constructions. The high costs of a prosthetic restoration, which must be met privately, can be a source of tension between dentist and patient if loss appears imminent. The patient often looks for mistakes in the quality of the work (“it cost a lot so it has to last a long time”). Thus, the patient’s cleaning problem becomes a problem for the dentist and possibly for his reputation, which leads to early initiation of aggressive antibiotic therapy. This produces an increased risk of selection of antibiotic-resistant micro-organisms, which may even cause life-threatening ab-

das Putzproblem des Patienten zum Problem des Behandlers und womöglich dessen Reputation gemacht, welches dazu verleitet, eher frühzeitig eine aggressive Antibiose einzuleiten. Dadurch liegt eine erhöhte Gefahr der Selektion antibiotikaresistenter Keime vor, die unter Umständen lebensbedrohliche Logenabszesse verursachen können [3]. In der orthopädischen Chirurgie hat die Anwendung von Langzeitantibiosen bereits zu einer erheblichen Zunahme von resistenten Erregern im Zusammenhang mit Gelenkimplantatinfektionen geführt [1].

Demzufolge besteht ein hohes Interesse, neue Therapiekonzepte für die Behandlung periimplantärer Infektionen zu entwickeln, die

1. die mikrobiologische Besiedlung des Implantats mit pathologischer Flora effektiv bekämpft,
2. die Entwicklung antibiotikaresistenter Keime einschränkt,
3. die Selektion pathologischer Sekundärflora behindert (z. B. sekundäre Candida-Infektion nach Antibiotikabehandlung),
4. antiinflammatorische Eigenschaften besitzen, um die körpereigenen gewebedestruierenden Zytokine und Enzyme als Folge der Entzündung zu reduzieren,
5. möglicherweise eine Geweberegeneration im Sinne einer *restitutio as integrum* begünstigen.

Antimikrobielle und antiinflammatorische Eigenschaften werden ätherischen essentiellen Ölen – z. B. Eucalyptus- und Teebaumöl – nachgesagt [17]. Diese werden in der traditionellen oder komplementären Medizin häufig angewendet, jedoch fehlt die Akzeptanz als Medikament bei den überwiegenden Behandlern mit den Wurzeln in der Schulmedizin. Das voraussetzende Vertrauen der Patienten in Naturheilverfahren ist hingegen oft bemerkenswert ausgeprägt. Als Kosmetika erleben diese Öle ebenfalls einen Boom und finden sich bereits z. B. in Mundspüllösungen wie Listerine (www.listerine.com, McNEIL-PPC, USA) und Zahncremes (Abb. 1). Dieses hat uns bewogen, in der vorliegenden Pilotstudie nun mit wissenschaftlich anerkannten mikrobiologischen Methoden, eine Auswahl an ätherischen essentiellen Ölen gegen klinisch relevante Keime auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit hin zu untersuchen.

Ziel ist es, gegebenenfalls neue Therapiekonzepte für die Behandlung periimplantärer Infektionen eventuell auf der Basis von ätherischen essentiellen Ölen zu entwickeln.

Material und Methoden

Im Rahmen von mikrobiologischen In-vitro-Untersuchungen wurden die folgenden essentiellen Öle geprüft, denen in der naturheilkundlichen Literatur antimikrobielle Eigenschaften nachgesagt werden: Eukalyptusöl, Teebaumöl, Thymianöl, Lemonöl, Lemongrassöl und Nelkenöl. Es wurden bei diesen Tests nur Reinöle direkt von australischen Herstellern bezogen, die ohne synthetische Aromastoffe oder Lösungsmittel geliefert wurden. Ebenfalls wurden drei Ölmixturen bzw. Anwendungsformen von Mundspüllösungen mit ätherischen Ölzusätzen geprüft. Darunter war eine eigene Ölkombination, bei der mehrere Reinöle zu einer Mischung kombiniert wurden, die als KMPT-Mix bezeichnet wurde. KMPT-Mix ist somit eine Mischung aus Eukalyptusöl, Teebaumöl, Lemongrassöl, Lemonöl, Nelkenöl und Thymianöl ge-

scen [3]. In orthopaedic surgery, the long-term use of antibiotics has already led to a substantial increase in antibiotic resistant pathogens associated with artificial joint implant infections [1].

Accordingly, there is great interest in developing new regimens for the treatment of peri-implant infections. These should

1. effectively combat microbiological colonization of the implant with pathological flora,
2. limit the development of antibiotic-resistant microorganisms,
3. prevent selection of secondary pathological flora (e. g. secondary candida infections after antibiotic treatment),
4. have anti-inflammatory characteristics in order to reduce destructive endogenous cytokines and enzymes as a result of inflammation,
5. if possible promote tissue regeneration in the sense of *restitutio ad integrum*.

Antimicrobial and anti-inflammatory characteristics are attributed to essential oils such as eucalyptus and tea tree oil [17]. These are employed frequently in traditional or complementary medicine, but are not accepted as a medication by the majority of clinicians with their roots in orthodox medicine. In contrast, the trust patients place in natural remedies is often remarkably striking. These oils are also experiencing a boom as cosmetics and can already be found, for instance, in oral rinses such as Listerine (www.listerine.com, McNEIL-PPC, USA) and toothpastes (Fig. 1). This induced us to conduct a pilot study of the antimicrobial effectiveness of a selection of essential oils against clinically relevant micro-organisms using scientifically accepted microbiological methods.

The aim is to develop potential new regimens for the treatment of peri-implant infections possibly based on essential oils.

Material and methods

The following essential oils, which are reputed in alternative medicine literature to have antimicrobial characteristics, were tested using in-vitro microbiological methods: eucalyptus oil, tea tree oil, thyme oil, lemon oil, lemongrass oil and clove bud oil. Only pure Australian oils obtained directly from Australian manufacturers were used, which were supplied without synthetic perfumes or solvents. Three oil mixtures and oral rinse formulations containing essential oils were also tested. These included our own oil combination, a mixture of several pure oils, which was designated KMPT Mix. KMPT Mix is a mixture of eucalyptus oil, tea tree oil, lemongrass oil, lemon oil, clove bud oil and thyme oil dissolved in 30 % ethanol. The other two mixtures were Listerine and Salviathymol (MADAUS GmbH, Cologne, Germany).



Abbildung 1 Teebaumöl (Tea Tree Oil) ist in Australien ein bekanntes Hausmittel zur Wundbehandlung und wird auch als antiseptischer Zusatz in Zahncremes eingesetzt. Die antimikrobiellen und antiinflammatorischen Eigenschaften der ätherischen essentiellen Öle sind interessant für die Behandlung periimplantärer Infektionen.

Figure 1 Tea tree oil is a common wound care antiseptic in Australia and is also used as an antimicrobial ingredient in toothpastes. The antimicrobial and anti-inflammatory effects of essential oils may be advantageous in dental implantology. (Abb. 1-2: P. H. Warnke)

löst in 30 % Ethanol. Die anderen beiden Mixturen waren Listerine und Salviathymol (MADAUS GmbH, Köln, Deutschland)

Als Kontrollen im Versuchsaufbau dienten standardmäßige verwendete wasserlösliche Antiseptika wie Ethanol (70 %), Betaisodona und Chlorhexidin 0,1 %. Weitere lipophile Kontrollen waren Olivenöl und Mineralöl (Paraffin), von denen keine antimikrobielle Aktivität erwartet wurde.

Bakterien- und Candidastämme

Die Testsubstanzen wurden im Agardiffusionstest gegen Stämme klinisch relevanter Spezies (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus haemolyticus* und *Candida albicans*) geprüft. Es wurden ebenfalls klinische Problemkeime, wie ein Methicilin-resistenter *Staphylococcus aureus*- (MRSA) und ein *Candida krusei*-Isolat geprüft. Jeder Test wurde doppelt durchgeführt.

Agardiffusionstest

Eine Kolonie der zu testenden Mikroorganismen wurde in 10 ml physiologischer Kochsalzlösung eingerührt. Davon wurden 2 ml der Lösung auf Nähragar gegeben (jeweils erregerspezifisch: Mueller-Hinton Agar, Columbia Agar mit 5 % Hammelblut, Sabouraud Agar plus Glukose), gleichmäßig verteilt und 1 ml der Lösung wieder abpipettiert.

Nach dem Trocknen der beimpften Agarplatten wurden Testblättchen (Antimicrobial Susceptibility TEST DISCS von OXOID, Durchmesser 6 mm) mittels einer sterilen Pinzette in das Zentrum der Platte gebracht und mit jeweils 10 µl des zu testenden Öls beschickt. Anschließend wurden die Agarplatten bei 37 °C für 18 Stunden inkubiert. Streptokokken-Teststämme wurden mikroaerophil bebrütet.

Im Anschluss daran wurden die Durchmesser der wachstumsfreien Hemmhöfe/Inhibitionszonen bestimmt, die bei antimikrobieller Wirksamkeit der Testsubstanz um die Testblättchen entstanden waren. Hemmhofdurchmesser kleiner oder gleich 6 mm wurden als wirkungslos klassifiziert, da sie den Eigendurchmesser der Testblättchen darstellten.

Auswertung

Die Mediane der Hemmhofdurchmesser wurden für jedes essentielle Öl bzw. die Kontrollen berechnet und in Säulendiagrammen dargestellt.

The controls employed in the study were standard water-soluble antiseptics such as ethanol (70 %), povidone iodine and chlorhexidine 0.1 %. The other lipophilic controls were olive oil and liquid paraffin, which were not expected to have any antimicrobial activity.

Bacterial and candida strains

The test substances were tested against strains of clinically relevant species (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus haemolyticus* and *Candida albicans*) using the agar diffusion test. Clinical problem strains such as isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Candida krusei* were also tested. Each test was performed in duplicate.

Agar diffusion test

A colony of the micro-organisms to be tested was stirred into 10 ml physiological saline. 2 ml of the solution was added to nutrient agar (depending on the strain: Mueller-Hinton agar, Columbia agar with 5 % sheep blood, Sabouraud agar plus glucose), distributed uniformly and 1 ml of the solution was pipetted.

After drying the inoculated agar plates, test discs (Antimicrobial Susceptibility TEST DISCS from OXOID, diameter 6 mm) were placed in the centre of the plates using sterile forceps and 10 µl of the test oil was placed on them. The agar plates were then incubated for 18 hours at 37 °C. Streptococcal test strains underwent microaerophilic incubation.

Following this, the diameters of the growth-free inhibition zones that had occurred around the test discs if the test substance exhibited antimicrobial activity were measured. Inhibition zone diameters of 6 mm or less were classified as ineffective as this was the diameter of the test discs.

Analysis

The medians of the inhibition zone diameters were calculated for each essential oil and for the controls and were shown as column diagrams.

Ergebnisse

Alle getesteten ätherischen essentiellen Öle und Ölmixturen zeigten gute bzw. teilweise deutliche antibakterielle und antimykotische Wirkungen gegen die geprüften Erreger. Es wurden Inhibitionszonen von 6 mm bis 49 mm erreicht.

Die größten Inhibitionszonen wurden für Lemongrassöl (bis 49 mm) und für Thymianöl (bis über 30 mm) unter den Reinölen, bezogen auf alle geprüften Erreger, gemessen. Von den getesteten Ölmixturen zeigte KMPT die deutlichsten Hemmhofdurchmesser, bezogen auf Staphylokokken- und Candidastämme. Bei den Streptokokkenversuchen waren deutliche Hemmhofdurchmesser für KMPT und Salviathymol ein Ausdruck der guten antimikrobiellen Wirksamkeit.

Auch die geprüften resistenten Problemkeime, wie MRSA und *Candida krusei*, reagierten empfindlich auf die getesteten ätherischen Reinöle und Ölmixturen, wie dies durch die deutlichen Inhibitionszonen belegt wird.

Die Kontrollen Olivenöl und Paraffinöl hatten in keinem Fall antibakterielle oder antimykotische Wirksamkeit, da die geprüften Problemkeime ungehindert wachsen konnten.

Mit Ethanol in 70 %iger Konzentration konnten in diesem Versuchsaufbau Inhibitionszonen von maximal 7 mm erreicht werden. Für *Betaisodona* und Chlorhexidin wurde ebenfalls eine Hemmwirkung auf Bakterien- und Candidawachstum belegt, wobei Inhibitionszonen von 10 mm bis 25 mm Durchmesser im Allgemeinen erreicht wurden.

Die Mediane der Durchmesser der Inhibitionszonen sind in Abbildungen 2a bis 2c dargestellt.

Diskussion

Die Ursprünge der Anwendungen ätherischer essentieller Öle bei den Ureinwohnern Australiens reichen vermutlich Jahrhunderte zurück [10].

Seit Beginn des 20. Jahrhunderts werden essentielle Öle als Antiseptika in Australien von den Immigranten verwendet und sind heute vielfach kommerziell erhältlich [11]. In früheren Studien wurden antimikrobielle Effekte von Teebaumöl gegen oralpathogene Bakterien und oropharyngeale Candidiasis bereits beschrieben [8, 16], ohne dass im europäischen oder amerikanischen Raum eine breite Akzeptanz als Antiseptikum erreicht worden wäre.

Um der antimikrobiellen Wirksamkeit mit mikrobiologischen Tests nachzugehen, wurde in dieser Studie die antimikrobielle Aktivität verschiedener essentieller Öle auf mehrere pathogene Keime getestet. Als orientierende Untersuchung wurden zunächst *Staphylococcus aureus*-, *Staphylococcus epidermidis*-, *Streptococcus mutans*-, *Streptococcus hämolyticus*- und *Candida albicans*-Stämme geprüft. Alle Keime sind klinisch relevant in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie und stellen häufige Erreger oraler, odontogener sowie kutaner Infektionen dar. Dabei gilt ein besonderes Augenmerk den ebenfalls getesteten klinischen Problemkeimen MRSA und *Candida krusei*. Weil gegen MRSA die gängigen Antibiotika der ersten Wahl nicht mehr greifen und oft Reserveantibiotika der letzten Instanz eingesetzt werden müssen, wird dieser Keim ein zunehmendes Problem insbesondere im Bereich intensivmedizinischer Patientenversorgung und von Akutkrankenhäusern. Die klinisch häufig gegen

Results

All of the tested essential oils and oil mixtures showed good to moderate antibacterial and antimycotic effects against the tested strains. Inhibition zones of 6 mm to 49 mm were obtained.

Among the pure oils the greatest inhibition zones were obtained for lemongrass oil (up to 49 mm) and thyme oil (up to over 30 mm) with reference to all the tested strains. Of the oil mixtures, KMPT showed the greatest inhibition zones with reference to staphylococcal and candida strains. In the tests with streptococci, obvious inhibition zones for KMPT and Salviathymol were an expression of their good antimicrobial activity.

Even the tested resistant strains, such as MRSA and *Candida krusei*, reacted sensitively to the essential oils and oil mixtures, as confirmed by the obvious inhibition zones.

The olive oil and liquid paraffin controls had no antibacterial or antimycotic activity in any case, as the tested problem strains were able to grow uninhibited.

Inhibition zones up to 7 mm were obtained with 70 % ethanol in this experimental design. An inhibitory effect on bacterial and candida growth was confirmed for povidone iodine and chlorhexidine, which resulted in inhibition zones 10 mm to 25 mm in diameter generally.

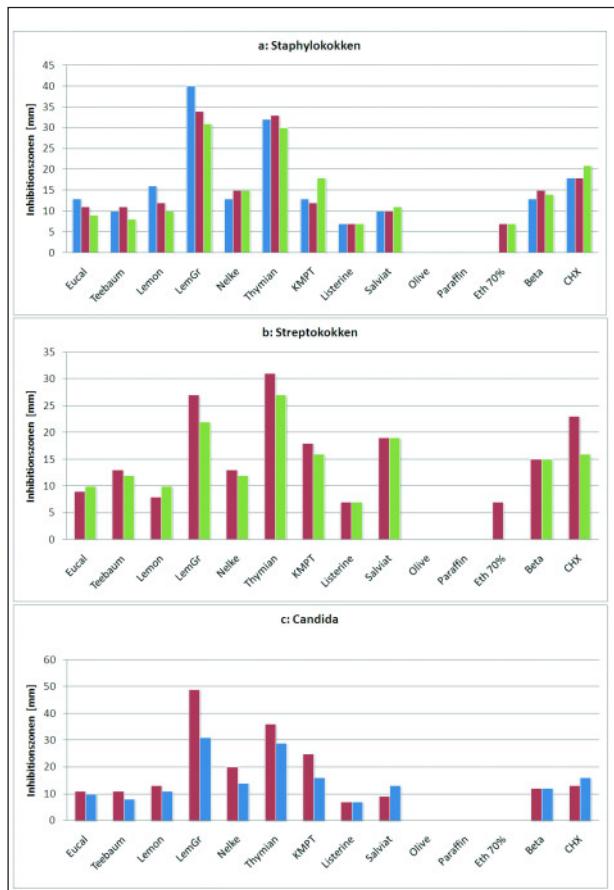
The medians of the diameters of the inhibition zones are shown in figures 2a to 2c.

Discussion

The origins of the use of essential oils among Australian Aborigines probably go back centuries [10].

Since the start of the 20th century, essential oils have been used in Australia as antiseptics by immigrants and many of them are now commercially available [11]. In earlier studies, the antimicrobial effects of tea tree oil against pathogenic oral bacteria and oropharyngeal candidiasis were already described [8, 16], though it did not gain broad acceptance as an antiseptic in Europe or America.

To investigate antimicrobial effectiveness with microbiological tests, the antimicrobial activity of different essential oils on several pathogenic micro-organisms was tested in this study. As a guide, strains of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus haemolyticus* and *Candida albicans* were tested first. All of these strains are clinically relevant in oral and maxillofacial surgery and are often a cause of oral, odontogenic and cutaneous infections. Special attention was paid to the problem pathogens MRSA and *Candida krusei*, which were also tested. Because the common antibiotics of first choice are no longer effective against MRSA and last-resort reserve antibiotics often have to be used, this strain is becoming an increasing problem especially in intensive care patients and acute hospitals. *Candida krusei* is often resistant clinically to common antimycotic agents and is a problem particularly in immunosuppressed patients and transplant recipients [16, 20]. Since the common treatment regimens are increasingly exhausted,



Abbildungen 2a – c Dargestellt sind die Mediane der Inhibitionszonnendurchmesser für die Testsubstanzen gegen Staphylokokken, Streptokokken und Candida. Diverse Öle hatten deutliche antimikrobielle Effekte mit Hemmhofdurchmessern bis fast 50 mm. Auch multiresistente Problemkeime – wie MRSA und *Cand. krusei* – wurden inhibiert. (a) blau: *Staph. aureus*; rot: MRSA; grün: *Staph. epidermidis*; (b) rot: *Strept. mutans*; grün: *Strept. hämolyticus*; (c) rot: *Cand. albicans*; blau: *Cand. krusei*

[Eucal: Eucalyptusöl; Teebaum: Teebaumöl; Lemon: Lemonöl; LemGr: Lemongrassöl; Nelke: Nelkenöl; Thymian: Thymianöl; KMPT: eigene Mischung; Listerine: Listerine Mundspg.; Salviat: Salviathymol Mundspg.; Olive: Olivenöl; Paraffin: Mineralöl; Eth 70 %: Ethanol 70 %; Beta: Betaisodona; CHX: Chlorhexidin 0,1 %]

Figures 2a – c Mean inhibition zones (in mm) produced by the substances against microbial strains such as staphylococci, streptococci and candida. Several oils showed clear antimicrobial effects with inhibition zones of up to 50 mm. Even multi-resistant strains (*MRSA* and *Cand. krusei*) were inhibited.

(a) blue: *Staph. aureus*; red: MRSA; green: *Staph. epidermidis*; (b) red: *Strept. mutans*; green: *Strept. haemolyticus*; (c) red: *Cand. albicans*; blue: *Cand. krusei*

[Eucal: eucalyptus oil; Teebaum: tea tree oil; Lemon: lemon oil; LemGr: lemongrass oil; Nelke: clove bud oil; Thymian: thyme oil; KMPT: custom mixture; Listerine: Listerine mouth rinse; Salviat: Salviathymol mouth rinse; Olive: olive oil; Paraffin: liquid paraffin; Eth 70 %: ethanol 70 %; Beta: povidone iodine; CHX: chlorhexidine 0.1 %]

gängige Antimykotika resistente *Candida krusei* ist ein Problemkeim insbesondere von immunsupprimierten Patienten und Transplantatempfängern [16, 20]. Weil hier die gängigen Therapiekonzepte zunehmend ausgereizt sind, könnten die gut wirksamen essentiellen Öle eine therapeutische Option für die lokale Anwendung sein. Die getesteten Öle zeigten hier teilweise deutliche Hemmhöfe von bis zu 49 mm z. B. beim Lemongrassöl gegen *Candida krusei*. Auch gegen MRSA erreichte Lemongrassöl bis über 30 mm. Die Kontrollen wie Chlorhexidin und Betaisodona erreichten Hemmhofdurchmesser von 10 mm bis 25 mm. Ein direkter Vergleich der Hemmhofdurchmesser unterschiedlicher Substanzen untereinander ist im Agardiffusionstest allerdings nicht uneingeschränkt zulässig. Die ausgeprägten Hemmhofdurchmesser bei den ätherischen Ölen sind aber ein eindrucksvoller Beleg ihrer antimikrobiellen Effektivität.

Für periimplatäre Infektionen spielen Anaerobier (z. B. *Porphyromonas gingivalis*) sicherlich eine gewichtigere Rolle, als die hier getesteten Kokken. Jedoch sind die Methoden für Testung von essentiellen Ölen im Anaerobier-Milieu (stark negatives Redoxpotential) noch nicht standardisiert und validierbar. Somit hat die vorliegende Studie eher einen orientierenden Charakter. Die gute Wirksamkeit gegen Staphylokokken und Streptokokken ist aber ein klarer Nachweis der antibakteriellen Wirkung. Deshalb wäre eine Wirkung auch gegen die Leitkeime der Periimplantitis wahrscheinlich. Damit würden sich ätherische Öle als potentielle Behandlungsoption in der Behandlung periimplantärer Infektionen empfehlen. Die Literatur gibt ebenfalls weitere Hinweise auf die antimikrobielle Wirksamkeit ätherischer Öle, die für die Implantologie von Relevanz wären [2].

the effective essential oils might be a therapeutic option for local use. Some of the tested oils showed marked inhibition zones of up to 49 mm, e. g. in the case of lemongrass oil against *Candida krusei*. Lemongrass oil achieved an inhibition zone of over 30 mm against MRSA also. The controls such as chlorhexidine and povidone iodine achieved inhibition zone diameters of 10 mm to 25 mm. Direct comparison of the inhibition zone diameters of different substances is not entirely admissible in the agar diffusion test. However, the marked inhibition zone diameters with the essential oils are impressive evidence of their antimicrobial effectiveness.

For peri-implant infections, anaerobes (e. g. *Porphyromonas gingivalis*) certainly play a weightier role than the cocci tested here. However, the methods for testing essential oils in an anaerobic milieu (highly negative redox potential) have not yet been standardized and validated. Thus, this study has a more orienting character. However, the effectiveness against staphylococci and streptococci is clear evidence of an antibacterial action. Activity against the leading strains that cause peri-implantitis would therefore be likely. Essential oils might thus be a potential option for the treatment of peri-implant infections. The literature also provides further evidence of the antimicrobial effectiveness of essential oils which would be relevant for implantology [2].

Terpenen-4-ol, linalool and alpha-terpineol have been described as active components, e. g. of tea tree oil [4, 5, 15, 18]. It has been shown that these substances, especially terpinen-4-ol, can destroy the bacterial cell wall and cause changes in the potassium concentration gradient [6]. Moreover, in-

Als wirksame Bestandteile z. B. von Teebaumöl werden Terpenen-4-ol, Linalool und alpha-Terpineol beschrieben [4, 5, 15, 18]. Bei diesen Wirkstoffen, insbesondere Terpinen-4-ol, konnte gezeigt werden, dass sie die bakterielle Zellwand zerstören und Veränderungen der Kalium-Konzentrationsgradienten verursachen können [6]. Des Weiteren konnte eine Inhibition der Glucose-abhängigen Zellatmung gezeigt werden [6, 9]. Dieses lässt vermuten, dass auch eine Wirksamkeit gegen Periimplantitis relevante Anaerobier erzielt werden könnte. Ein Einsatz dieser Öle in der lokalen Behandlung periimplantärer Infektionen wäre folglich in Erwägung zu ziehen, um auch die Problematik lokaler Antibiotika-Anwendungen im Hinblick auf Resistenzentwicklungen zu umgehen.

Weiterhin ergeben klinische und immunologische Studien Hinweise auf antiinflammatorische Eigenschaften der essentiellen ätherischen Öle [17], die unter anderem durch eine Hemmung der Entzündungsmediatorproduktion der Monozyten begründet sein können [13, 24]. Antiinflammatorische Effekte wären von erheblichem Vorteil in der Periimplantitis-Therapie, da durch die Hemmung der Ausschüttung von Entzündungsmediatoren auch die Einschränkung des entzündungsbedingten Knochenabbaus begünstigt würde. Ebenfalls beschriebene Wundheilungspromotion durch essentielle Öle könnte dem Idealziel *restitutio ad integrum* dienlich sein [24, 26]. Dadurch bestünde ein klarer, klinisch relevanter Vorteil gegenüber den klassischen Antiseptika, wie Betaisodona und Chlorhexidin.

Die Reinöle wurden in unverdünnter bzw. ungelöster Form getestet. In reiner Form können ätherische Öle einen strengen, intensiven Eigengeruch aufweisen und wären zu viskös für die Anwendung in einer Sprühflasche. Deshalb werden sie häufig in Alkohol gelöst, um ihre Eigenschaften insbesondere für Anwendungen in der Aromatherapie zu verbessern. Im allgemeinen erreichen die citrischen Öle, wie Lemongrassöl oder Lemonöl, eine hohe Akzeptanz bei den Patienten. Melaleuca-artige Öle, wie Teebaumöl oder Eucalyptusöl, können teilweise auf Ablehnung stoßen, wie wir in Geruchstests mit Patienten und Pflegepersonal geprüft haben. Die Kombination mehrerer Öle kann synergistische Wirkungseffekte aufweisen und den Gesamtgeruch erheblich verbessern (Ergebnisse dieser Studien nicht dargestellt).

In Deutschland sind käufliche ätherische Öle daher oft mit Ethanol oder synthetischen Aromastoffen versetzt, um leichter zu verflüchtigen und den Belangen der Aromatherapie gerecht zu werden. Die hier getesteten drei Ölmixturen sind ebenfalls in Alkohol (max. 30 %) gelöst. Bei der eigenen Mischung KMPT sollte durch die Alkohol bedingte leichtere Verflüchtigung der angenehme Eigengeruch der Öle begünstigt und die Applikation als Sprühantiseptikum bei der Wundbehandlung ermöglicht werden. Dies hat sich in der klinischen Anwendung bestätigt [24].

Oft wird kritisiert, dass lediglich der Ethanolzusatz für die antimikrobiellen Eigenschaften ursächlich sei. Deshalb wurde Ethanol in hoher 70 %iger Konzentration als Kontrolle geprüft, womit in diesem Testverfahren Hemmhöfe bis 7 mm erreicht wurden. Da die Reinöle ohne Alkoholzusatz und auch die Ölmixturen mit wesentlich geringerem Alkoholzusatz deutliche Inhibitionszonen verursachten, ist die antimikrobielle, pharmakologische Wirkung im Wesentlichen auf die Wirkstoffe in den Ölen selbst zurückzuführen.

Inhibition of glucose-dependent cell respiration has been demonstrated [6, 9]. This suggests that effectiveness against anaerobes of relevance in peri-implantitis might be achieved. Consequently, use of these oils in the local treatment of peri-implant infections might be considered in order to circumvent the problems of local antibiotic use with regard to the development of resistance.

Clinical and immunological studies also provide evidence that the essential oils have anti-inflammatory characteristics [17], which may be due in part to inhibition of production of inflammatory mediators by the monocytes [13, 24]. Anti-inflammatory effects would be of considerable benefit in the treatment of peri-implantitis since inhibition of inflammatory mediator secretion would also help to limit bone atrophy due to inflammation. Promotion of wound healing by essential oils has been described and might assist the ideal goal of *restitutio ad integrum* [24, 26]. This would give them a clear and clinically relevant advantage compared to classic antiseptics such as povidone iodine and chlorhexidine.

The pure oils were tested in undiluted or undissolved form. In pure form, essential oils can have an intense intrinsic odor and would be too viscous for use in a spray bottle. They are therefore frequently dissolved in alcohol in order to improve their characteristics, especially for use in aromatherapy. In general, citric oils such as lemongrass oil or lemon oil are highly acceptable to patients. Melaleuca-like oils such as tea tree oil or eucalyptus oil sometimes encounter rejection, as we discovered in odor tests with patients and nursing staff. The combination of several oils can have synergistic effects and can improve the overall odor considerably (results of these studies not shown).

The essential oils on sale in Germany often have ethanol or synthetic perfume added to increase evaporation and make them suitable for aromatherapy requirements. The three oil mixtures tested here were also dissolved in alcohol (max. 30 %). With our own KMPT mixture, the readier evaporation induced by the alcohol should promote the pleasant intrinsic odor of the oils, allowing them to be used as an antiseptic spray in wound treatment. This has been confirmed in clinical use [24].

A frequent criticism is that the added ethanol alone is the cause of the antimicrobial characteristics. That is why ethanol in the high concentration of 70 % was tested as a control, achieving inhibition zones of up to 7 mm. Since the pure oils without added alcohol and the oil mixtures containing much less added alcohol produced marked inhibition zones, the antimicrobial pharmacological effects can essentially be attributed to the substances in the oils themselves.

The possibility that the physical lipophilic characteristics of the oils might be the reason for the inhibition of bacterial growth can be ruled out since the lipophilic controls, olive oil and liquid paraffin, did not demonstrate an inhibition zone in any case.

A possible disadvantage is the bitter taste of some concentrated pure oils, though the individual assessment differs. In the literature there are reports of systemic toxicity [16]. There have been isolated reports of contact dermatitis, which can occur with excessive use of undiluted tea tree oil [7] or eucalyptus oil [23]. So far, we have not encountered this in our patients. The proportion of photo-oxidants, which are held re-

Dass die physikalischen, lipophilen Eigenschaften der Öle der Grund für die Hemmung des Bakterienwachstums sein könnten, kann ausgeschlossen werden, da die lipophilen Kontrollen Olivenöl und Paraffin in keinem Fall eine Inhibitionszone aufwiesen.

Nachteilig kann der bittere Geschmack einiger konzentrierter Reinöle sein, wobei dies auch individuell unterschiedlich beurteilt wird. In der Literatur finden sich Berichte über systemische Toxizität [16]. Vereinzelt wird über eine Kontaktdermatitis berichtet, die bei exzessivem Gebrauch von unverdünntem Teebaumöl [7] oder Eukalyptusöl [23] auftreten kann. Wir haben dies in unserem Patientengut bisher nicht feststellen können. Die von uns verwendeten Öle sind vom Hersteller durch Pflanzenzucht und Herstellungsverfahren in ihrem Anteil an Photooxidantien reduziert worden, die durch Bildung von Degradationsprodukten in den Ölen für eine Allergenisierung verantwortlich gemacht werden [12, 14]. Eventuell sieht dies bei synthetischen Ölen oder Aromatherapieölen anders aus und eine Allergenisierung wäre möglich. Allerdings sind Allergien auch auf die klassischen Antiseptika, wie das jodhaltige Betaisodona, bekannt.

Naturprodukte unterliegen herstellungsbedingten und herkunftsbedingten Schwankungen in ihrer pharmakologischen Zusammensetzung. Das heißt, dass verschiedene Teebaumöl- oder Eucalyptusölsorten auch unterschiedliche Aktivitäten aufgrund verschiedener Wirkstoffanreicherung haben können. In weiterführenden Studien haben wir deutliche antimikrobielle Wirkunterschiede in den Ölen verschiedener Hersteller gefunden (Ergebnisse dieser Studien nicht dargestellt). Wir haben daraufhin die wirksamsten Öle für unsere Anwendungen und unsere Mischung selektiert. Somit gelten die dargestellten Ergebnisse in erster Linie für die von uns verwendeten Substanzen.

Wir sind in Folgestudien dabei, die Applikationsform der ätherischen Öle für die Sanierung periimplantärer Infektionen zu optimieren. In ersten klinischen Tests haben wir bereits Taschenspülungen durchgeführt. Eine Applikation als Gel gegebenenfalls mit verlängerter Haftung auf der Implantatoberfläche ist unser derzeit angestrebtes Ziel.

Schlussfolgerung

Die getesteten ätherischen, essentiellen Öle zeigen deutliche antimikrobielle Wirkungen gegen Staphylokokken, Streptokokken und Candida. Insbesondere die Wirkung gegen multi-resistente klinische Problemkeime ist hervorzuheben. Die anti-inflammatorischen Eigenschaften ätherischer Öle stellen einen Vorteil gegenüber den klassischen Antiseptika, wie Betaisodona und Chlorhexidin dar. Die getesteten Öle sind vollkommen natürlich hergestellt und kostengünstig verfügbar. Sollte sich die vermutete antimikrobielle Wirkung auch gegen die Leitkeime der Periimplantitis bestätigen, könnten ätherische, essentielle Öle in Zukunft eine Alternative in der lokalen Behandlung periimplantärer Infektionen darstellen. Folgestudien befassen sich mit diesem Indikationsfeld.

Danksagung

Diese Studie ist Teil einer Serie, die in Zusammenarbeit mit Prof. *Eugene Sherry*, Faculty of Health Sciences and Medicine,

responsible for allergizing through the formation of degradation products in the oils, has been reduced in the oils we use by the manufacturer through plant cultivation and the manufacturing process [12, 14]. The situation may be different with synthetic oils or aromatherapy oils and allergizing would be possible. In any case, allergies to classic antiseptics such as povidone iodine are well-known.

The pharmacological composition of natural products varies depending on their origin and conditions of manufacture. This means that different varieties of tea tree oil or eucalyptus oil can have different activities because of different concentrations of active substance. In further studies we found marked differences in antimicrobial effectiveness in the oils from different manufacturers and different countries of origin (results of these studies not shown). We then selected the most effective oils for our applications and mixture. Thus, the results presented here apply primarily for the substances used by us.

We are currently conducting further studies to optimize the form of application of the essential oils for the treatment of peri-implant infections. In initial clinical tests, we have already carried out pocket irrigation. Application in gel form, possibly providing prolonged adhesion to the implant surface, is our current aim.

Conclusion

The tested essential oils exhibit clear antimicrobial effects against staphylococci, streptococci and candida. In particular, the effect on multi-resistant strains should be stressed. The anti-inflammatory properties of essential oils represent an advantage compared to classic antiseptics such as povidone iodine and chlorhexidine. The tested oils are produced naturally and cheaply. If the suspected antimicrobial effects against the dominant strains in peri-implant infections can be confirmed, essential oils may offer an alternative in the local treatment of these infections. This indication will be investigated in further studies.

Acknowledgments

This study is part of a series conducted in collaboration with Prof. *Eugene Sherry*, Faculty of Health Sciences and Medicine, Bond University, QLD, AUS, Dr. *Sureshan Sivananthan*, Dept. of Orthopaedic Surgery, University College of London, UK, and Dr. *Paul AJ Russo*, Dept. of Immunology, Australian National University, Canberra, AUS. We acknowledge the research grant from the Medical Faculty of Christian Albrecht University in Kiel.

Bond University, QLD, AUS, sowie Dr. *Sureshan Sivananthan*, Dept of Orthopaedic Surgery, University College of London, UK, und Dr. *Paul AJ Russo*, Dept. of Immunology, Australian National University, Canberra, AUS, durchgeführt wird. Wir bedanken uns für die Forschungsförderung durch die Medizinische Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel.

Korrespondenzadresse:

Privatdozent Dr. Dr. Patrick H. Warnke
Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Arnold-Heller-Str. 16
24105 Kiel
E-Mail: warnke@mkg.uni-kiel.de

Literatur

1. Arciola CR, Campoccia D, An YH, Baldassarri L, Pirini V, Donati ME et al.: Prevalence and antibiotic resistance of 15 minor staphylococcal species colonizing orthopedic implants. *Int J Artif Organs* 2006;29(4):395-401
2. Arweiler NB, Donos N, Netuschil L, Reich E, Sculean A: Clinical and antibacterial effect of tea tree oil – a pilot study. *Clin Oral Investig* 2000; 4(2):70-73
3. Bartsch MS, von Bernstorff W, Schafer FK, Wiltfang J, Warnke PH: Critical odontogenic infection involving the mediastinum. Case report. *Mund Kiefer Gesichtschir* 2005;9(4):257-262
4. Carson CF, Hammer KA, Riley TV: In-vitro activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* against *Streptococcus* spp. *J Antimicrob Chemother* 1996; 37(6):1177-1178
5. Christoph F, Kaulfers PM, Stahl-Biskup E: A comparative study of the in vitro antimicrobial activity of tea tree oils s.l. with special reference to the activity of betatriketones. *Planta Med* 2000; 66(6):556-560
6. Cox SD, Gustafson JE, Mann CM, Markham JL, Liew YC, Hartland RP et al.: Tea tree oil causes K⁺ leakage and inhibits respiration in *Escherichia coli*. *Lett Appl Microbiol* 1998; 26(5): 355-358
7. de Groot AC, Weyland JW: Systemic contact dermatitis from tea tree oil. *Contact Dermatitis* 1992;27(4): 279-280
8. Groppo FC, Ramacciato JC, Simoes RP, Florio FM, Sartoratto A: Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil, and chlorhexidine against oral microorganisms. *Int Dent J* 2002;52(6):433-437
9. Gustafson JE, Liew YC, Chew S, Markham J, Bell HC, Wylie SG et al.: Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Lett Appl Microbiol* 1998;26(3):194-198
10. Halcon L, Milkus K: *Staphylococcus aureus* and wounds: a review of tea tree oil as a promising antimicrobial. *Am J Infect Control* 2004;32(7):402-408
11. Harkenthal M, Reichling J, Geiss HK, Saller R: Comparative study on the in vitro antibacterial activity of Australian tea tree oil, cajuput oil, niaouli oil, manuka oil, kanuka oil, and eucalyptus oil. *Pharmazie* 1999;54(6):460-463
12. Harkenthal M, Hausen BM, Reichling J: 1,2,4-Trihydroxy menthane, a contact allergen from oxidized Australian tea tree oil. *Pharmazie* 2000;55(2):153-154
13. Hart PH, Brand C, Carson CF, Riley TV, Prager RH, Finlay-Jones JJ: Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflamm Res* 2000;49(11): 619-626
14. Hausen BM, Reichling J, Harkenthal M: Degradation products of monoterpenes are the sensitizing agents in tea tree oil. *Am J Contact Dermat* 1999; 10(2):68-77
15. Hinou JB, Harvala CE, Hinou EB: Antimicrobial activity screening of 32 common constituents of essential oils. *Pharmazie* 1989;44(4):302-303
16. Jandourek A, Vaishampayan JK, Vazquez JA: Efficacy of melaleuca oral solution for the treatment of fluconazole refractory oral candidiasis in AIDS patients. *AIDS* 1998;12(9):1033-1037
17. Juergens UR, Dethlefsen U, Steinkamp G, Gillissen A, Regges R, Vetter H: Anti-inflammatory activity of 1.8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respir Med* 2003;97(3):250-256
18. May J, Chan CH, King A, Williams L, French GL: Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 2000;45(5):639-643
19. Montanaro L, Campoccia D, Arciola CR: Advancements in molecular epidemiology of implant infections and future perspectives. *Biomaterials* 2007; 28(34):5155-5168
20. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Nagy E, Dobiasova S, Rinaldi M, Barton R, Veselov A, the Global Antifungal Surveillance Group: *Candida krusei*, a multidrug-resistant opportunistic fungal pathogen: Geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. *J Clin Microbiol* 2008 Feb;46(2):515-521. Epub 2007 Dec 12
21. Reich E, Arweiler N, Benz C, Lynch E, Scholz V: Stellenwert des Chlorhexidins in der Implantatversorgung – Konsensuspapier. *ZWR* 2007;116:359-362
22. Schwarz F, Bieling K, Bonsmann M, Latz T, Becker J: Nonsurgical treatment of moderate and advanced periimplantitis lesions: a controlled clinical study. *Clin Oral Investig* 2006;10(4):279-288
23. Vilaplana J, Romaguera C: Allergic contact dermatitis due to eucalyptol in an anti-inflammatory cream. *Contact Dermatitis* 2000;43(2):118
24. Warnke PH, Sherry E, Russo PA, Acil Y, Wiltfang J, Sivananthan S et al.: Antibacterial essential oils in malodorous cancer patients: clinical observations in 30 patients. *Phytomedicine* 2006; 13(7):463-467
25. Wiltfang J, Schultze-Mosgau S, Nkenke E, Thorwarth M, Neukam FW, Schlegel KA: Onlay augmentation versus sinuslift procedure in the treatment of the severely resorbed maxilla: a 5-year comparative longitudinal study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005;34(8): 885-889
26. Woollard AC, Tatham KC, Barker S: The influence of essential oils on the process of wound healing: a review of the current evidence. *J Wound Care* 2007; 16(6):255-257