

Prognostische mikrobiologische Marker bei Patienten mit moderater bis schwerer chronischer Parodontitis

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Dr. med. dent.
an der Medizinischen Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von: Karolin Vollroth
geboren am: 25.09.1985 in Sondershausen
angefertigt in: Funktionsbereich Parodontologie der
Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
Universität Leipzig
Betreuer: Prof. Dr. Dr. h.c. Holger Jentsch

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 21.05.2019

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	8
1.1	Epidemiologie und Ätiopathogenese	9
1.2	Parodontitis und parodontopathogene Mikroorganismen	10
1.2.1	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	12
1.2.2	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	13
1.2.3	<i>Tannerella forsythia</i>	14
1.2.4	<i>Treponema denticola</i>	15
1.2.5	<i>Fusobacterium nucleatum/ necrophilus</i>	16
1.2.6	<i>Prevotella intermedia</i>	16
1.2.7	<i>Filifactor alocis</i>	17
1.2.8	<i>Parvimonas micra</i>	17
1.2.9	<i>Campylobacter rectus</i>	17
1.2.10	<i>Eubacterium nodatum</i>	18
1.2.11	<i>Eikenella corrodens</i>	18
1.2.12	<i>Capnocytophaga sputigena</i>	18
1.3	Parodontaltherapie	19
1.3.1	Scaling und Root Planing	20
1.3.2	Manuelle Reinigung	20
1.3.3	Maschinelle Reinigung	22
1.3.4	Alternative Therapieverfahren	24
2	AUFGABENSTELLUNG / ZIEL DER STUDIE	26
3	MATERIAL UND METHODEN	27
3.1	Durchführung klinischer Befunderhebung	27
3.2	Patientenauswahl und Studiendesign	28
3.3	Mikrobiologische Analyse	31
3.3.1	Durchführung der DNA Extraktion durch Anwendung der Chelexmethode	31
3.3.2	Nachweis parodontopathogener Bakterien mittels micro-IDent®plus Test	32
3.3.3	Nachweis von <i>Filifactor alocis</i> mittels real-time PCR	36
3.4	Gruppenzuordnung	37
3.5	Statistische Auswertung	37
4	ERGEBNISSE	38
4.1	Studienteilnehmer	38
4.2	Klinische Variablen	39

4.2.1	Klinische Variablen zu den Zeitpunkten Baseline (t_0), 3 Monate nach SRP (t_1) sowie 6 Monate nach SRP (t_2) innerhalb der Gruppen und im Gruppenvergleich	39
4.3	Nachweis der Mikroorganismen aus dem subgingivalen Biofilm innerhalb der Gruppen und im Gruppenvergleich	40
5	DISKUSSION	50
5.1	Methodenkritik	51
5.1.1	Probanden	51
5.1.2	Probenentnahme	51
5.1.3	Mikrobiologische Analyse	52
5.1.4	Scaling und Root Planing	53
5.2	Diskussion der Ergebnisse	54
5.2.1	Änderungen der klinischen Variablen	54
5.2.2	Änderungen der Mikroflora	58
6	ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT	67
7	LITERATURVERZEICHNIS	70
8	ANLAGEN	90
9	ERKLÄRUNG ÜBER DIE EIGENSTÄNDIGE ABFASSUNG	92
10	LEBENS LAUF	93
11	PUBLIKATIONEN	94
12	DANKSAGUNG	95

Abkürzungsverzeichnis

AL	Attachmentlevel
aP	aggressive Parodontitis
API	Approximalraum-Plaqueindex
BOP	Bluten auf Sondieren
bzw	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca	circa
Ca ²⁺	Calcium
CDT	zytotoxales aufblähendes Toxin
cP	chronische Parodontitis
d. h.	das heißt
dH ₂ O	destilliertes Wasser
DNA	Desoxyribonukleinsäure
g	Gramm
h	Stunden
High Response	hohes/ starkes Ergebnis
Hz	Hertz
IL	Interleukin
kDa	Kilodalton
kHz	Kilohertz
l	Liter
Low Response	geringeres/ weniger starkes Ergebnis
LPS	Lipopolysaccharide
Max	Maximum
Min	Minimum
min	Minuten
Mg ²⁺	Magnesium
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
mm	Millimeter
mM	Millimol
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer

N	Newton
n	Anzahl der Merkmalsausprägungen
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natriumhydroxid
nm	Nanometer
OMP	Proteine der Außenmembran
PA	Parodontitis
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PD	Sondierungstiefe
PDT	photodynamische Therapie
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionen-Aktivität
PMN	polymorphkernige Leukozyten
PZR	professionelle Zahnreinigung
s	Sekunden
SRP	Scaling und Root Planing
TNF	Tumornekrosefaktor
UPT	Unterstützende Parodontitistherapie
uvm	und viele mehr
vs.	versus
W	Watt
W/l	Watt pro Liter
z.B.	zum Beispiel
Zig	Zigaretten
Zn	Zink
%	Prozent
$\bar{x} \pm S$	Mittelwert \pm Standardabweichung

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Gracey Küretten Hu Friedy, Quelle: www.dentonet.ch	21
Abbildung 2: Zeitstrahl Studiendesign	30
Abbildung 3: Applikation der Papierspitze in die parodontale Tasche	30
Abbildung 4: Eppendorf®-Reaktionsgefäß mit 4 Papierspitzen.....	30
Abbildung 5: Teststreifen und Schablone (Quelle: Frau Prof. Eick, Bern)	35

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakterisierung der Studienteilnehmer	38
Tabelle 2: Klinische Variablen im Gruppenvergleich zu t_0 , t_1 und t_2	39
Tabelle 3: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von <i>A. actinomycetemcomitans</i>	40
Tabelle 4: Nachweis des Mikroorganismus <i>A. actinomycetemcomitans</i> in Kategorien.....	40
Tabelle 5: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von <i>P. gingivalis</i>	41
Tabelle 6: Nachweis des Mikroorganismus <i>P. gingivalis</i> in Kategorien	41
Tabelle 7: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von <i>T. forsythia</i>	42
Tabelle 8: Nachweis des Mikroorganismus <i>T. forsythia</i> in Kategorien	42
Tabelle 9: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von <i>T. denticola</i>	43
Tabelle 10: Nachweis des Mikroorganismus <i>T. denticola</i> in Kategorien.....	43
Tabelle 11: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von <i>P. intermedia</i>	43
Tabelle 12: Nachweis des Mikroorganismus <i>P. intermedia</i> in Kategorien	44
Tabelle 13: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von <i>F. alocis</i>	44
Tabelle 14: Nachweis des Mikroorganismus <i>F. alocis</i> in Kategorien.....	44
Tabelle 15: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von <i>P. micra</i>	45
Tabelle 16: Nachweis des Mikroorganismus <i>P. micra</i> in Kategorien	45
Tabelle 17: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von <i>F. nucleatum/ necrophilus</i>	46
Tabelle 18: Nachweis des Mikroorganismus <i>F. nucleatum/ necrophilus</i> in Kategorien.....	46
Tabelle 19: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von <i>C. rectus</i>	46
Tabelle 20: Nachweis des Mikroorganismus <i>C. rectus</i> in Kategorien.....	47
Tabelle 21: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von <i>E. nodatum</i>	47
Tabelle 22: Nachweis des Mikroorganismus <i>E. nodatum</i> in Kategorien.....	47
Tabelle 23: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von <i>E. corrodens</i>	48
Tabelle 24: Nachweis des Mikroorganismus <i>E. corrodens</i> in Kategorien.....	48
Tabelle 25: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von <i>C. sputigena</i>	49
Tabelle 26: Nachweis des Mikroorganismus <i>C. sputigena</i> in Kategorien	49

1 Einleitung

Die Parodontitis ist eine polymikrobielle Biofilminfektion, die mit einer Bindegewebs- und Alveolarknochendestruktion einhergeht und zur Zerstörung des Zahnhalteapparates führt (Morillo et al. 2004, Gutierrez-Venegas et al. 2007). Die Ursache dieser pathogenen Veränderungen ist die anhaltende entzündliche Reaktion des Wirts auf die bakteriellen Stoffwechselprodukte (Morillo et al. 2004). Folglich besteht die Hauptaufgabe der Parodontitistherapie in der Wiederherstellung der parodontalen Entzündungsfreiheit durch die Beseitigung des Biofilms. Die mechanische Reinigung der Wurzeloberfläche ist hierfür als das Mittel der Wahl anzusehen (Jentsch et al. 2001). Durch systematisches Scaling und Root Planing (SRP) werden supra- und subgingivale harte und weiche Ablagerungen weitestgehend entfernt und die Anzahl der Mikroorganismen verringert (Haffajee et al. 2003). Zusätzliches Ziel ist die Etablierung einer nicht parodontopathogenen Mikroflora (Jentsch & Purschwitz 2008).

Viele der als pathogen geltenden Bakterien sind nicht nur in der Zahnfleischtasche anzutreffen, sondern in verschiedenen intraoralen Habitaten angesiedelt (Paster et al. 2006). Auch beim parodontal Gesunden können die Erreger nachgewiesen werden, was wiederum einen Risikofaktor für den späteren Erwerb der Parodontitis darstellt (Feng & Weinberg 2006). Eine Studie aus dem Jahre 2012 erklärt die Ätiopathogenese auf Grundlage einer polymikrobiellen Synergie, die ein dysbiotisches Verhältnis entstehen lässt und eine gewebezerstörende Wirtsantwort hervorruft (Hajishengallis & Lamont 2012). Die Autoren distanzieren sich hierbei von der Ansicht des einzelnen pathogenen Erregers als Ursache entzündlicher Destruktion. Trotz alledem scheinen einige Bakterien für die Entstehung der Parodontitis eine wichtigere Rolle zu spielen als andere (Ten Cate & Zaura 2012). Auch im „polymicrobial synergy and dysbiosis“ Modell wird von Schlüsselpathogenen berichtet, die durch die Expression von Virulenzfaktoren modulierenden Einfluss auf die Immunantwort des Wirts nehmen (Hajishengallis & Lamont 2012).

Vor diesem Hintergrund sollen in der vorliegenden Studie zwölf Mikroorganismen und klinische Variablen bei Patienten mit moderater bis schwerer chronischer Parodontitis untersucht werden. Die Datenerhebung und Gewinnung der Mikrobiota soll vor sowie drei und sechs Monate nach dem standardmäßig durchgeführten

Scaling und Root Planing erfolgen. Anschließend soll herausgefiltert werden, welcher dieser Marker eine Prognose für das Therapieergebnis liefert.

1.1 Epidemiologie und Ätiopathogenese

Die fünfte deutsche Mundgesundheitsstudie aus dem Jahre 2016 lässt einen erfolgreichen Anstieg parodontaler Gesundheit feststellen. Durch die Zunahme präventionsorientierter und systematischer Parodontitistherapie konnte ein Rückgang behandlungsbedürftiger schwerer Erkrankungsformen verzeichnet werden (Jordan & Micheelis 2016). Auch bei den Senioren (65 Jahre) waren die schweren Parodontitiden rückläufig. In der Altersklasse der 35 - 44-Jährigen sind die Zahnfleischtaschen mit einer Sondierungstiefe von 4 mm auf 48,3 % von ursprünglich 52,7 % gesunken. Allein bei den 65 - 74-Jährigen ist ein Anstieg der moderaten Parodontitis zu beobachten (Jordan & Micheelis 2016). Es sollte nicht außer Acht gelassen werden, dass jährlich noch 500 000 Menschen an einer schweren Parodontitisform erkranken (Kassebaum et al. 2014) und die einmalige professionelle Zahnreinigung nicht ausreicht (Tonetti et al. 2015). Laut Deinzer et al. (2009) ist das Wissen um die Prävention kaum vorhanden.

Die Parodontitis ist eine infektiöse und chronisch entzündliche Erkrankung der zahntragenden Gewebe, die zu einem progredienten Attachment- und Knochenverlust führt (Gutierrez-Venegas et al. 2007). Verantwortlich für die Progression dieser Erkrankung ist neben der individuellen Immunantwort des Wirts (Michalowicz et al. 2000) die qualitative und quantitative Beschaffenheit der subgingivalen Plaque (Van Winkelhoff et al. 2002). Die Parodontitis geht immer aus einer Gingivitis hervor (Van der Weijden & Slot 2011) und ist nur beschränkt reversibel (Wolf et al. 2004). Demgegenüber kann die Gingivitis über Jahre bestehen und bei guter Mundhygiene vollständig abklingen (Wolf et al. 2004). Erstreckt sich die, durch Ansammlung supragingivaler Plaque, verursachte Entzündungsreaktion bei der Gingivitis nur auf die Gingiva, greift sie bei der Parodontitis auf den Zahnhalteapparat über. Ohne Therapie führt der entzündlich und resorptiv bedingte Attachmentverlust zum fortschreitenden Abbau des alveolären Knochens (Pihlström et al. 2005, Kornman 2008).

Die Pathogenese ist eine komplexe Interaktion zwischen bakteriellen Mikroorganismen und der Immunabwehr des Wirts (Kohal & Dennison 2000). Im Vergleich zu der älteren Literatur, die die Bakterien als Hauptursache darstellte, weiß man heute, dass das Vorkommen pathogener Spezies nicht zwangsläufig mit der Entstehung der Parodontitis korreliert (Seymour & Taylor 2004). Das Taschenmilieu bietet gute Bedingungen für das Überleben der Parodontalpathogene, die jedoch an der Progression der Erkrankung beteiligt sein können (Wolf et al. 2004). Häufig ist es der Einfluss von Risikofaktoren, die das Gleichgewicht zwischen körpereigener Abwehr und bakterieller Invasion stören (Gängler & Arnold 2010). Hierzu zählen Rauchen als Genussmittel, Stress oder systemische Erkrankungen, wie Diabetes mellitus (Van Dyke & Sheilesh 2005). Eine bidirektionale Beeinflussung konnte bei der rheumatoiden Arthritis nachgewiesen werden (Moen et al. 2003). Hinzu kommt die Fähigkeit der Bakterien, Virulenzfaktoren wie Zytokine oder Prostaglandine freizusetzen, die den Abbau des Alveolarknochens induzieren und den Wirt schädigen (Lamont & Yilmaz 2002). Folglich resultiert der Schweregrad der Parodontalerkrankung aus der komplexen Interaktion von Individuum, Bakterien und Umweltfaktoren (Ohlrich et al. 2009).

1.2 Parodontitis und parodontopathogene Mikroorganismen

Nur einige wenige der in der oralen Mikroflora identifizierten 600 Spezies (Dewhirst et al. 2010) können in einen ätiologischen Zusammenhang mit marginalen Parodontitiden gebracht werden (Keijser et al. 2008). Das Keimspektrum ist vielfältiger als in den vergangenen Jahren vermutet und untersucht wurde (Griffen et al. 2011). Parodontopathogene Mikroorganismen gehören zur kommensalen oralen Mikroflora (Li et al. 2004, Papaioannou et al. 2009). Nicht nur in der Zahnfleischtasche, sondern auch in Bereichen der Mundschleimhaut, Zunge und der Tonsillen sind sie anzutreffen (Paster et al. 2006). Darüber hinaus haben sie eine essentielle Bedeutung für die Entwicklung und Reifung der Immunantwort (Darveau 2009, Slack et al. 2009). Ihr Vorkommen beim parodontal Gesunden führt nicht zwangsläufig zu einer pathogenen Veränderung (Ximenez-Fyvie et al. 2000a,b). Die Fähigkeit zur Adhärenz ermöglicht den Bakterien in die residente Mikroflora integriert zu werden und erleichtert die Bildung eines Biofilms (Nobbs et al. 2011). Das Biofilmwachstum wird durch den horizontalen Gentransfer, der Zell-Zell-

Interaktion und einer reduzierten Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber antimikrobiellen Stoffen und der Wirtsabwehr sichergestellt (Marsh 2005).

Berezow und Darveau beschrieben 2011, dass es durch Dysbiose zur Parodontitis kommen kann (2011). Hierbei verändert sich die symbiotische Bakterien-Wirts-Interaktion in Richtung eines pathogenen Verhältnisses, welches die Schädigung des Wirts zur Folge hat. Auch das 2012 erschienene „polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD-)“ Modell macht deutlich, dass die Ursache parodontaler Pathogenese vielmehr auf die dysbiotische orale Mikroflora zurückzuführen ist, als einzelne Bakterien verantwortlich zu machen (Hajishengallis & Lamont 2012). Der von Socransky et al. (1998) definierte „rote Komplex“ umfasst die Parodontal-pathogene *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* sowie *Treponema denticola* und ist mit einem fortschreitenden Krankheitsverlauf assoziiert. Auch andere Organismen, wie *Filifactor alocis*, *Peptostreptococcus stomatis* oder die *Prevotella* Spezies, weisen eine vergleichbare Pathogenität auf (Griffen et al. 2011, 2012). Im PSD-Modell gehört *Porphyromonas gingivalis* zu den Leitpathogenen, da er sein mikrobielles Umfeld stark beeinflussen kann (Hajishengallis et al. 2011). Kommt es zu einem, vom Leitkeim induzierten, modulierten und dysbiotischen Verbund verschiedener Bakterienarten, führt dies beim Wirt zur Entzündungsreaktion und Knochenresorption (Kumar et al. 2006, Griffen et al. 2012).

Viele Bakterien, wie zum Beispiel *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* und *F. nucleatum*, besitzen die Fähigkeit in die Zellen des parodontalen Gewebes einzudringen und durch die Expression von Virulenzfaktoren dieses zu schädigen (Lamont & Yilmaz 2002). Gerade durch die von den Erregern freigesetzten Proteasen kommt es zur Gewebsdestruktion (Holt & Ebersole 2005). Die gute Kultivierbarkeit von *A. actinomycetemcomitans* und *P. gingivalis* ermöglicht viele Untersuchungen, die die Pathogenität unterstreichen (Armitage 2010). Die *Porphyromonas* Spezies kann wie viele andere Bakterienarten mit erhöhten Taschentiefern in Verbindung gebracht werden (Riep et al. 2009). Der von *A. actinomycetemcomitans* isolierte Serotyp b steht in Assoziation mit der aggressiven Parodontitis (Haubek 2010) und ist im kaukasischen Kulturkreis seltener anzutreffen (Jentsch et al. 2012). Ein Vorkommen der *Capnocytophagen* im Verbund mit *Eikenella corrodens*, *Actinomyces oris*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus*

oralis, *Streptococcus sanguis*, *Veillonella parvula* und *Selemonas noxia* scheint die Entstehung einer Parodontalerkrankung zu begünstigen (López et al. 2011).

Es bleibt festzustellen, dass Parodontitiden keine Monoinfektionen sind (Armitage 2010). Die Liste der Parodontalpathogene wird stetig erweitert und beschränkt sich nicht nur auf gram-negative Anaerobier (Armitage 2010).

1.2.1 *Porphyromonas gingivalis*

Das Vorkommen von *Porphyromonas gingivalis* beeinflusst maßgeblich die parodontale Destruktion und ist klinisch mit erhöhten Taschentiefen verbunden (Van Winkelhoff et al. 2002, Kawada et al. 2004). In vereinzelt Ausnahmefällen kann das Bakterium an gesunden Stellen oder bei der Gingivitis nachgewiesen werden (Van Winkelhoff et al. 2002). Die Elimination der Spezies aus dem parodontalen Gewebe kann zum Rückgang der Parodontitis führen (Fujise et al. 2002, Bostanci & Belibasakis 2012), hingegen ein Persistieren refraktäre Formen verursachen kann (Delima & Van Dyke 2003).

Porphyromonas gingivalis ist ein gram-negatives, unbewegliches, obligat anaerobes Stäbchenbakterium, das der schwarzpigmentierten Bacteroidesgruppe angehört. Die Stämme dieses Mikroorganismus können in nicht-invasiv und invasiv unterteilt werden, wobei invasive Stämme nachweislich mehr pathogenes Potenzial besitzen (Dorn et al. 2000). Für sein Wachstum benötigt *P. gingivalis* ein anaerobes Milieu und Nährstoffe wie Vitamin K. Durch die Fähigkeit Aminosäuren verstoffwecheln zu können, schafft sich das Bakterium optimale Bedingungen, um in der parodontalen Tasche überleben zu können (Bostanci & Belibasakis 2012).

Wie andere pathogene Mikroorganismen verfügt der Keim über eine Vielzahl von Virulenzfaktoren. Die Fimbrien verhelfen dem Organismus zur Adhärenz an Epithelzellen und Fibroblasten des Parodontalgewebes (Amano 2003). Weiterhin ermöglichen sie die Invasion in die Wirtszelle, beruhend auf einer Wechselwirkung dieser Fimbrien mit den dort befindlichen Oberflächenproteinen. Zahlreiche Bakterien können folglich in die besagte Gingivazelle penetrieren, dort persistieren und die Wirtsabwehr umgehen (Yilmaz et al. 2003).

Durch die in seiner Membran befindlichen Lipopolysaccharide (LPS) kann die Spezies intrazelluläre Vorgänge in den Wirtszellen hervorrufen (Bostanci & Belibasakis 2012) und eine überschießende Produktion bestimmter Zellregulator-

proteine induzieren. So wird die Produktion proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18 und TNF- α in Makrophagen und anderen Zellen in großen Mengen stimuliert (Zhou et al. 2005, Andrian et al. 2006, Hamedi et al. 2009). Vor allem über die Tumornekrosefaktoren (TNF- α) und das IL-1 aktivieren die Lipopolysaccharide Osteoklasten und führen zum Abbau des Knochens (Chiang et al. 1999). Eine Vielzahl an Enzymen kann das Bakterium synthetisieren, die ganz wesentlich zur Virulenz beitragen (Eley & Cox 2003). Schlüsselfunktion nehmen hierbei die Gingipaine ein. Diese Cystein-Proteinasen können für 85 % der proteolytischen Aktivität verantwortlich gemacht werden (Potempa et al. 1997) und lassen sich in argininspezifische und lysinspezifische Gingipaine unterteilen (Sheets et al. 2008). Die bakteriellen Proteinasen können die Immunantwort beeinflussen oder durch die Spaltung von Immunglobulinen, Regulator- und Komplementproteinen diese auch umgehen (Popadiak et al. 2007). Weiterhin können sie die Blutgerinnung aktivieren (Imamura et al. 2003) und die vaskuläre Permeabilität steigern (Imamura et al. 2001). Neben weiteren Enzymen, wie Phospholipase A, Fibrinolysin und Kollagenasen, sezerniert die Spezies toxische Stoffwechselendprodukte (Propionat, Butyrat und Ammoniak), welche maßgeblich an der Zerstörung des Parodonts beteiligt sind (Takahashi et al. 2000, Gusman et al. 2001).

1.2.2 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

A. actinomycetemcomitans gehört zur Gattung *Aggregatibacter*, welche wiederum zur Familie *Pasteurellaceae* zählt (Norskov-Lauritsen & Kilian 2006). Es handelt sich hierbei um einen gram-negativen, nicht-freibeweglichen, saccharolytischen, mikroaerophilen und fakultativ anaeroben Kokkobazillus (Köhler et al. 2001, Sanderink 2004, Gutierrez-Venegas et al. 2008). Das Bakterium ist Bestandteil der natürlichen Mikroflora der Mundhöhle (Kayser et al. 2005). Ein hohes Auftreten der Spezies ist mit Stellen lokalisierter aggressiver Parodontitis assoziiert (Dumitrescu 2010). In diesem Falle lassen sich bei den Erkrankten Antikörper im Exsudat der parodontalen Tasche nachweisen (Rogers et al. 2007). Bei der chronischen Parodontitis trat der Keim in 20 - 75 % aller Fälle auf (Wu et al. 2007, Torrungruang et al. 2009). Die Fähigkeit in der parodontalen Tasche zu persistieren, gelingt der Spezies durch die erneute Besiedlung dieser nach bereits durchgeführter Parodontitistherapie (Ehmke et al. 2005).

Aufgrund unterschiedlicher Oberflächenantigene werden sieben Serotypen (a-g) unterschieden (Norskov-Lauritsen & Kilian 2006, Takada et al. 2010). Jeder Wirt ist Träger von nur einem Serotyp, wobei a-c nachweislich häufiger auftritt als d-f (Kaplan et al. 2001, Kim et al. 2009, Chen et al. 2010). Ein hohes parodontopathogenes Potenzial wird beim Serotyp b vermutet, der auch in klinischen Isolaten von Parodontitispatienten dominierte (Kaplan et al. 2001, Dumitrescu 2010). Die Virulenz des Mikroorganismus wird anhand der Produktion gewebeschädigender Metabolite deutlich. Neben Kollagenasen, Lipopolysacchariden und Proteasen stellen Zytotoxine die Ursache für entzündliche sowie gewebeabbauende Vorgänge dar (Sanderink 2004). Das vom Bakterium gebildete Leukotoxin (LtxA) ist ein wasserlösliches Lipoprotein, welches polymorphkernige Leukozyten (PMN), Makrophagen und zum Teil Lymphozyten zerstören kann (Venketaraman et al. 2008). In vitro führte es zur Lyse menschlicher Erythrozyten (Venketaraman et al. 2008). Das Leukotoxin gehört zur Familie der RTX-Toxine und schützt den Erreger vor Phagozytose (Sanderink 2004). Weitere Pathogenität wird ihm durch die Produktion des cytolethal distending toxin (CDT) zuteil. Das CDT hat immunsuppressive Eigenschaften (Tan et al. 2002) und ist befähigt, die B- und T-Zell-Funktion zu inhibieren (Shenker et al. 2005). Ebenso kann es die Proliferation von Lymphozyten und Bindegewebszellen hemmen (Johansson et al. 2005). Die zusätzlich vom Bakterium gebildeten Endotoxine, Chaperone und das capsular-like polysaccharide antigen (CPA) führen zur Knochenresorption. Zum Beispiel stimuliert das CPA die Osteoklasten und verursacht gleichermaßen die Apoptose der Osteoblasten (Sanderink 2004).

1.2.3 *Tannerella forsythia*

Bei diesem parodontopathogenen Organismus handelt es sich um ein gramnegatives, obligat anaerobes, spindelförmiges sowie pleomorphes Stäbchenbakterium, das dem roten Komplex (sogenannter „A“-Komplex) angehört.

Die Anwesenheit von *T. forsythia* führt zu pathologischen Veränderungen des Zahnhalteapparates, darüber hinaus kann das Herz-Kreislauf-System negativ beeinflusst werden (Spahr et al. 2006). Studien konnten belegen, dass 37 % der Erwachsenen dauerhafte Träger des Bakteriums sind, während der Anteil bei den Jugendlichen bei einem Viertel liegt. Sehr hohe Keimzahlen fanden sich in den

Parodontaltaschen bei 11 % der Erwachsenen (Narayanan et al. 2005). Das charakteristische Auftreten bei destruktiven Knochenläsionen lässt ein vom Schweregrad abhängiges Wachstum vermuten (Huang et al. 2003). Die flüchtigen Fettsäuren der Spezies rufen einen Foetor ex ore bei den Betroffenen hervor (Lee et al. 2003).

T. forsythia zeichnet sich durch eine Vielzahl von Virulenzfaktoren aus. Unter den hydrolytischen und proteolytischen Enzymen (Eley & Cox 2003) ist besonders das Trypsin hervorzuheben, welches als der wichtigste gewebezerstörende Faktor der Parodontitis gilt (Potempa et al. 2000). Zusätzliche Virulenz verleiht die Fähigkeit zur Adhärenz an epitheliale Zellen (Han et al. 2000). Es besteht ein enger Zusammenhang zwischen dem Bluten auf Sondieren und dem Auftreten von *T. forsythia* (Kook et al. 2005).

1.2.4 *Treponema denticola*

Treponema denticola ist ein gram-negatives, anaerobes und asaccharolytisches Stäbchen, das zur Familie oraler *Spirochäten* gehört. Die Spezies lässt sich nur schwer kultivieren, dafür mikroskopisch gut nachweisen.

Neben *P. gingivalis* und *T. forsythia* ist das Bakterium eng mit dem klinischen Fortschreiten der chronischen Parodontitis verbunden (Veith et al. 2009). *Treponema denticola* wurde häufiger bei Parodontitispatienten als beim Gesunden und vermehrt in Parodontaltaschen als in der supragingivalen Plaque gefunden (Riviere et al. 1992). Das Anheften der *Spirochäten* an Oberflächen in polarer Ausrichtung führt zu morphologischen Veränderungen der Wirtszelle, woraufhin die Spezies einfacher in die umliegenden Gewebe eindringen kann (Martin & Marsh 2003). Zu den virulenten Eigenschaften zählt die Freisetzung von Peptidasen und Proteasen. Weiterhin trägt die Expression zytolytischer Faktoren sowie die gute Beweglichkeit mithilfe von Flagellen zum invasiven Charakter von *T. denticola* bei (Sela 2001). Gegenüber anderen *Spirochäten* scheint das Bakterium stärker proteolytisch aktiv zu sein. Auch Kollagene kann der Mikroorganismus abbauen (Martin & Marsh 2003).

1.2.5 *Fusobacterium nucleatum/ necrophilus*

Bei den *Fusobakterien* handelt es sich um gram-negative, spindelförmige, obligate Anaerobier, die häufig aus der Mundhöhle isoliert werden.

Charakteristisch ist das Vorkommen in der subgingivalen Plaque, wobei sich der Erreger kommensal verhalten oder mit parodontalen Entzündungen assoziiert sein kann (Ikegami et al. 2009). Die Spezies kann sich wechselnden pH-Bedingungen anpassen und gerade in frühen Phasen der Parodontitiserkrankung das vorherrschende saure Milieu neutralisieren. Folglich fungiert die Spezies als Wegbereiter für säureempfindliche Keime, wie *Porphyromonas gingivalis* (Zilm et al. 2007). Eine weitere wichtige Funktion bei der Reifung des Biofilms wird ihr als Brückenbildner zuteil (Periasamy & Kolenbrander 2009). Außerdem kann das Bakterium Aminosäuren entschwefeln, wodurch Wasserstoffsulfid und Methylmercaptan freigesetzt werden (Kang et al. 2006), die wiederum zur Bildung eines Foetor ex ore beitragen (Liu et al. 2009). Nennenswerter Virulenzfaktor ist das in der Zellwand enthaltene Hitzeschockprotein Hsp 60, welches toxisch wirkt (Ford et al. 2006).

1.2.6 *Prevotella intermedia*

Als Hauptbestandteil der menschlichen Mikroflora ist *P. intermedia* an vielen unterschiedlichen Körperregionen, wie den weiblichen Geschlechtsorganen oder dem Mund- und Rachenraum, anzutreffen und wird häufig als Ursache endogener Infektionen angesehen (Yanagisawa et al. 2006).

P. intermedia ist ein gram-negatives, schwarzpigmentiertes, obligat anaerobes und bewegliches Stäbchenbakterium. Ein Auftreten bei der akut nekrotisierenden ulzerierenden Gingivitis, Schwangerschaftsgingivitis und chronischen Parodontitis konnte ihm nachgewiesen werden (Yanagisawa et al. 2006). Weiterhin ist der Mikroorganismus mit einem Foetor ex ore assoziiert (Tanaka et al. 2008). Die Pathogenität beruht auf der Expression von Cystein- und Serinproteasen (Yanagisawa et al. 2006). Im Falle der *Prevotella*-Spezies bedingen diese Proteasen nicht nur den Abbau von Proteinen, sondern schützen gleichermaßen vor der körpereigenen Abwehr. Die Cysteinprotease Interpain A kann beispielsweise das Komplementsystem angreifen und inhibieren (Potempa et al. 2009). Das Adhärenzvermögen des Bakteriums führt zur Ausschüttung von Mediatoren, die an der Induktion einer Entzündung beteiligt sind (Gursoy et al. 2009).

1.2.7 *Filifactor alocis*

F. alocis ist ein gram-positives, obligat anaerobes und stäbchenförmiges Bakterium. In der Literatur wird von einem geeigneten mikrobiologischen Marker der Parodontitis berichtet (Kumar et al. 2006). Die Spezies ist nicht nur bei der chronischen PA (Schlafer et al. 2010) und lokal aggressiven Parodontitis präsent (Hutter et al. 2003), auch bei den refraktären Erkrankungsformen konnte der Erreger nachgewiesen werden (Aruni et al. 2014). Die Anwesenheit von *F. alocis* ist kennzeichnend für einen fortschreitenden Krankheitsverlauf (Kumar et al. 2006).

Der Organismus besitzt die Fähigkeit, unter oxidativem Stress überleben zu können und induziert die Invasion von *P. gingivalis* in epitheliale Zellen (Aruni et al. 2011). Eine Studie berichtet von virulenten Eigenschaften, die auf die Produktion einer Peptidase zurückzuführen sind, welche Kollagene abbauen und die Apoptose oraler Keratinozyten induzieren kann (Chioma et al. 2016).

1.2.8 *Parvimonas micra*

P. micra gehört zu den gram-positiven, anaeroben Kokken, die mit polymikrobiellen Infektionen im Zusammenhang stehen (Ota-Tsuzuki & Alves Mayer 2010). Der Erreger kann sich kommensal verhalten, häufig ist er jedoch bei Parodontitispatienten vorzufinden (Swoboda et al. 2008). Aufgrund der Produktion zytotoxischer Schwefelverbindungen spielt das Bakterium eine Rolle bei der parodontalen Destruktion (Riggio et al. 2001).

1.2.9 *Campylobacter rectus*

Diese gram-negative Bakterienspezies ist mit einer Geißel besetzt und bevorzugt das mikroaerophile Milieu. In der subgingivalen Plaque von Parodontitispatienten ist der Erreger häufiger anzutreffen als beim parodontal gesunden Patienten (Ximenez-Fyvie et al. 2000a). Die auf seiner Oberfläche befindlichen Proteine (S-layer proteins) zählen zu den Virulenzfaktoren von *C. rectus* (Ihara et al. 2003). Zum einen vermitteln sie die Bindung an Epithelzellen und zum anderen bieten sie Schutz vor einer komplement-vermittelten Immunantwort (Thompson 2002). Zusätzlich verfügt der Erreger über ein Hitzeschockprotein, das die Expression von proinflammatorischen Zytokinen aus körpereigenen Zellen induziert (Wang et al. 2000).

1.2.10 *Eubacterium nodatum*

E. nodatum ist ein gram-positives, anaerobes Stäbchenbakterium. Der Erreger ist ein Kommensale der Mundhöhle, der vermehrt in der subgingivalen Plaque von Patienten mit chronischer Parodontitis anzutreffen ist (Haffajee et al. 2006). Seine Besiedlung erleichtert die Kolonisation anspruchsvollerer Keime (Zhou et al. 2005). Außerdem konnte der Nachweis erbracht werden, dass das Auftreten von *E. nodatum* mit dem Bluten auf Sondieren assoziiert ist (Surna et al. 2008).

1.2.11 *Eikenella corrodens*

Das gram-negative, fakultativ anaerobe und pleomorphe Stäbchenbakterium gehört zur menschlichen Schleimhautflora und ist an verschiedenen Regionen des Körpers anzutreffen. Unter anderem zählen die Mundhöhle, der Respirationstrakt sowie der Intestinal- und Genitaltrakt dazu (Fujise et al. 2004). Erhöhte Keimzahlen konnten aus dem subgingivalen Biofilm von Parodontitispatienten isoliert werden (Socransky et al. 2002, Colombo et al. 2009). Ebenso können Abszesse, Wundinfektionen, Meningitis und Endokarditis mit dem Bakterium in Verbindung gebracht werden (Pellachia et al. 2006). Eine synergistische Beziehung geht *E. corrodens* mit *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ein (Fujise et al. 2004).

1.2.12 *Capnocytophaga sputigena*

Die *Capnocytophagen* sind gram-negative Stäbchenbakterien, die im anaeroben aber auch kapnophilen Milieu wachsen können. Sie gehören zur kommensalen menschlichen Rachenflora und sind als opportunistische Krankheitserreger von Bedeutung (Altmeyer & Paech 2011). Die Spezies tritt nicht nur bei Parodontitispatienten auf. Auch bei immunsupprimierten Menschen kann der Organismus lokalisierte Entzündungen verursachen (Altmeyer & Paech 2011). Bei Diabetespatienten ist die Spezies häufig im subgingivalen Biofilm nachzuweisen (Ciantar et al. 2005).

1.3 Parodontaltherapie

Das Ziel der Parodontaltherapie besteht in erster Linie in der Reduktion verursachender Mikroorganismen (Haffajee et al. 2003). Die Beseitigung des Biofilms sowie mineralisierter Auflagerungen ist Grundvoraussetzung für die parodontale Entzündungsfreiheit. Hierfür hat sich die mechanische Reinigung der Wurzeloberfläche weitestgehend etabliert (Cobb 2002). Das systematische Scaling und Root Planing bewirkt eine Desintegration des Biofilms, wodurch die Anzahl parodontopathogener Erreger verringert wird (Petersilka et al. 2002). Nach dem SRP wird der subgingivale Bereich von überwiegend nicht pathogenen Mikroorganismen besiedelt, die eine Rekolonisation pathogener Spezies zunächst inhibieren (Petersilka et al. 2002). Das Hauptproblem besteht in der Reinfektion der Zahnfleischtasche durch Parodontalkeime, die in den Nischen der Mundhöhle persistieren. Dementsprechend wird der Erfolg der Therapie von der Zusammensetzung der parodontalen Mikroflora und der Immunabwehr des Patienten mitbestimmt (Van Winkelhoff & Boutaga 2005, Lee et al. 2006). Zusätzlich beeinflussen die Mundhygiene sowie die Patientencompliance das Ergebnis. Im Rahmen der unterstützenden Parodontitistherapie (UPT) wird die Weiterbehandlung eingeleitet und der Behandlungserfolg durch Mundhygienemotivation und -instruktion sichergestellt. Außerdem werden auftretende Entzündungen eliminiert und sämtliche Zahnfleischtaschen größer 3,5 mm, und damit als nicht mehr physiologisch geltend, den entsprechenden Therapiemaßnahmen zugeführt (Eickholz 2013).

Das nichtchirurgische Vorgehen verbessert die klinischen Variablen indem die Taschentiefe verringert, das Bluten auf Sondieren reduziert und ein klinischer Attachmentgewinn erzielt wird (Heitz-Mayfield et al. 2002). Laut einer Studie von Drisko (2001) konnte die Taschentiefe bis zu 2,16 mm verkleinert werden und ein Attachmentgewinn von stellenweise 1,19 mm im Frontzahn- und Prämolarenbereich erreicht werden. Claffey et al. (2004) konnten nachweisen, dass sich infolge SRP die parodontale Entzündung in Abhängigkeit von der Taschentiefe um 15 % reduziert. Bei schweren Parodontitiden kann an lokalisierten Stellen eine chirurgische Belagsentfernung indiziert sein (Hung & Douglass 2002), wobei dies lediglich als Ergänzung des nichtchirurgischen Verfahrens anzusehen ist (Needleman et al. 2002).

1.3.1 Scaling und Root Planing

Das Scaling und Root Planing dient der Herstellung einer toxin- und biofilmfreien Wurzeloberfläche durch schonendes Vorgehen beim Abtrag harter und weicher subgingivaler Beläge (Van der Weijden & Timmerman 2002). Die mechanische Reinigung erfolgt unter Lokalanästhesie mit Hand- und Ultraschallinstrumenten (Obeid et al. 2004, Khosravi et al. 2004). Der Einsatz des maschinellen Verfahrens kann der Qualität der manuellen Instrumentierung gleichgesetzt werden (Cobb 2002, Sculean et al. 2004). Beide Vorgehensweisen erzielten vergleichbare Attachmentgewinne nach Scaling und Root Planing an einwurzeligen Zähnen (Petersilka & Flemmig 2005). Bei schwieriger Wurzelanatomie sowie der Überprüfung der vollständigen Partikelentfernung könnte das manuelle Verfahren jedoch überlegen sein. Die ausgesprochen gute Taktilität schafft hier den Vorteil (Rühling et al. 2002). Hingegen gewährleistet die maschinelle Methode im Furkationsbereich reproduzierbare Qualität (Kocher et al. 2000). Neben der Geräuscharmheit und geringen Aerosolentwicklung ist die Arbeit mit Ultraschall- und Schallenergie für den Behandler ermüdungsärmer und delegierbarer (Petersilka & Flemmig 2004).

Die Bearbeitung der Wurzeloberfläche kann quadrantenweise je Sitzung oder auch an allen Zähnen gleichzeitig erfolgen. Anderenfalls ist die Durchführung innerhalb von 24 h im Sinne der full mouth Behandlung möglich, wobei keine Unterschiede im Ergebnis hinsichtlich der Vorgehensweise bestehen (Jervøe-Storm et al. 2006, Eberhard et al. 2008). Bei sehr tiefen Taschen ist davon auszugehen, dass ein Teil der Auflagerungen nicht entfernt werden kann und subgingival verbleibt, was jedoch ein klinisch zufriedenstellendes Ergebnis nicht beeinflusst (Cobb 2002). Beide Verfahren sollten die Ansprüche, die an die Reinigungsqualität und Oberflächengüte nach Instrumentierung gestellt werden, erfüllen. Aus zahnärztlicher Sicht sollte möglichst schnell und bei geringer Patientenbelastung ein maximaler Erfolg erzielt werden (Petersilka & Flemmig 2005).

1.3.2 Manuelle Reinigung

Für die manuelle Reinigung der Wurzeloberfläche werden verschiedene Küretten angeboten. Die *Universalküretten* haben beispielsweise einen Arbeitswinkel von 90° und durch die zwei Schneideflächen können sie, ihrem Namen entsprechend, an grundsätzlich jeder Fläche angewendet werden. Die *Langer-Küretten* besitzen

zwar die gleiche Arbeitsspitze wie die Universalinstrumente, jedoch ähneln sie im Schaftdesign eher den *Gracey Küretten* (Müller 2012). Diese Spezialküretten zeichnen sich durch eine individuelle Morphologie des Arbeitsteils aus. Die Schneidekante ist um 70° zum Schaft abgewinkelt und nur einseitig scharf. Die gegenüberliegende Seite der Schneidefläche ist folglich stumpf, sodass das umliegende Gewebe nicht traumatisiert wird (Müller 2012). *Gracey Küretten* sind speziell für die Bearbeitung der Hartgewebsseite der Zahnfleischtasche vorgesehen (Eickholz 2011) und bei korrekter Anwendung können sie, anders als die beidseitig geschliffenen Universalinstrumente, kein Taschenepithel ausräumen (Wolf et al. 2004). Für die Behandlung hat sich das vereinfachte Set, wie auf der folgenden Abbildung 1 dargestellt, mit vier doppelendigen Instrumenten am meisten bewährt. Der jeweilige Farben- bzw. Zahlencode definiert den Anwendungsbereich:



Abbildung 1: Gracey Küretten Hu Friedy, Quelle: www.dentonet.ch

Das Standard-Instrument wurde Ende der 1980er Jahre das erste Mal modifiziert, indem der Schaft 3 mm verlängert und die Schneide graziler gestaltet wurde. Die *Gracey-After-Five-Kürette* kam auf den Markt und sollte den Zugang zu Zahnfleischtaschen mit einer Tiefe > 5 mm ermöglichen (Hellwege 2007). Einige Jahre später wurde dieses Modell in seiner Formgebung individualisiert. Die bis heute erhältliche *Gracey-Mini-Five-Kürette* überzeugt mit einer deutlich kürzeren Schneide, die die bessere Renigung besonders enger Sondierungstaschen und Furkationsbereiche gewährleistet (Hellwege 2007).

Nennenswerte Vorteile der Handinstrumentierung sind die gute Taktilität, die Vermeidung von Hitze- und Aerosolentwicklung sowie das kontrollierte Einbringen und apikal gerichtete Vorschieben der Kürette in die parodontale Tasche (Barendregt et al. 2008). Demgegenüber steht der deutlich hohe Mehraufwand an Kraft und Zeit für das Behandler-Team sowie das regelmäßige Schleifen der Instrumente (Fischer & Fickl 2011). Auch bei der Qualität des Oberflächenreliefs konnten Kawashima et al. (2007) den Handinstrumenten eine rauere Oberfläche gegenüber den Schall- und Ultraschallgeräten nachweisen.

1.3.3 Maschinelle Reinigung

Die *Schallinstrumente*, oder auch Airscaler genannt, werden durch Druckluft angetrieben. Der im Handstück befindliche Hohlzylinder beginnt durch den Luftstrom zu rotieren, woraufhin die Arbeitsspitze in Bewegung gebracht wird. Hierbei werden bis zu 8 000 kreisförmige Schwingungen erzeugt. Die Spitze arbeitet hochaktiv und stets gleichbleibend, dabei spielt die Lokalisation des Ansatzes keine ausschlaggebende Rolle (Petersilka & Flemmig 2005, Schäfer & Petersilka 2010). Der Substanzabtrag kommt durch die gleichmäßig hämmernden Bewegungen an der Zahnoberfläche zustande (Lea & Walmsley 2009).

Die Firma KaVo (Biberach, Deutschland) hat mit dem „SONICflex[®]“-System einen Airscaler auf den Markt gebracht, der durch die große Auswahl an Arbeitsspitzen ein breites Einsatzspektrum abdeckt (KaVo, Produktbeschreibung). Glatte Spitzen sollten, zum Beispiel, vorrangig im Rahmen der Erhaltungsphase zum Einsatz kommen (Eickholz 2007). Ein Vorteil des „SONICflex[®]“ ist das substanzschonende Vorgehen sowie die schmerzarme Behandlung aufgrund der sanften Oszillation. Außerdem erzeugt das Gerät weniger Wärme, da die Schallfrequenz gegenüber den Ultraschallgeräten geringer ist (Firma KaVo, Biberach, Deutschland).

Die Wirkungsweise der *Ultraschallinstrumente* beruht auf einer mechanischen Schwingung im Raum, die von der Frequenz und Amplitude sowie der Form und Länge abhängig ist. Treffen die meist linear kreisförmigen Schwingungen auf die subgingival befindlichen harten Auflagerungen werden diese zerstört und beseitigt (Petersilka & Flemmig 2005). Die Schallfrequenzen sind deutlich höher und können zwischen 20 000 Hz - 45 000 Hz liegen (Lea & Walmsley 2009). Desweiteren sorgt

der Kavitationseffekt für die Entfernung des Biofilms. Hierbei induzieren die Ultraschallwellen eine akustische Strömung, die Gasbläschen entstehen lässt, welche implodieren und Energiestöße freisetzen und damit direkt zur Zerstörung von bakteriellen Zellwänden und dem Biofilm führen (Lea & Walsmley 2009). Die Wärmeentwicklung am Instrumentenansatz macht den Einsatz einer Kühlflüssigkeit notwendig, um das umliegende Gewebe zu schützen. Der zusätzlich desinfizierende Effekt bei Verwendung antimikrobieller Lösungen als Kühlflüssigkeit bleibt jedoch umstritten (Petersilka & Flemmig 2004, Guarnelli et al. 2008).

Entsprechend dem Antrieb unterscheidet man die magnetostriktiven und piezoelektrischen Ultraschallsysteme (Petersilka & Flemmig 2004).

- Magnetostriktives Verfahren

Die Schwingungen werden durch elektromagnetische Felder um einen im Gerätehandstück eingebauten ferromagnetischen Kern erzeugt. Durch die Zufuhr elektrischen Stromes bilden sich Magnetfelder um einen Eisenstab oder ein lamellenförmiges Nickelbündel, die zur raschen Dimensionsänderung des Metallkerns führen. Die sich entwickelnden hochfrequenten Schwingungen werden unmittelbar an die Instrumentenspitze weitergeleitet. Die Schwingungsform ist ellipsoid bis kreisförmig und die Amplitude beträgt bis zu 100 µm (Trenter & Walsmley 2003, Lea et al. 2003). Aufgrund der ellipsenähnlichen Bewegungsbahnen ist die Spitze nicht in alle Richtungen gleich aktiv, daher sollte eine tangentielle Führung entlang der Wurzeloberfläche angestrebt werden (Petersilka & Flemmig 2004). Zum Beispiel arbeitet das „Cavitron® Plus“ Gerät der Firma Dentsply (New York, USA) nach dem magnetostriktiven Prinzip.

- Piezoelektrisches Verfahren

Bei piezoelektrischen Ultraschallschalern entsteht die Schwingung, indem hochfrequente Wechselspannung auf einen Quarzkristall trifft. Durch die Bipolarität der Kristalle kommt es zu einer wechselnden Abfolge von Kontraktion und Ausdehnung. Diese mechanische Bewegung erzeugt Schwingungen von 25 - 50 kHz an der Arbeitsspitze, wobei die Schwingungsform nahezu linear verläuft und die Amplitude 17 - 72 µm beträgt (Lea et al. 2003). Die Arbeitsweise ist rein hämmernd oder schabend/ kratzend, entsprechend des Anstellwinkels und der Führung des Arbeitendes. Ein Vertreter dieses Funktionsprinzips ist das Piezon® Master 700 Gerät der Firma EMS (Nyon, Schweiz). Die geraden Arbeitsspitzen, wie das Instrument „Perio

Slim (PS)“, eignen sich gut für subgingivale Ablagerungen bei paralleler Anstellung des Instruments zur Zahnoberfläche. Für die maschinelle Reinigung im Seitenzahngelände stehen wahlweise nach links- oder rechtsabgewinkelte Ansätze zur Verfügung (EMS, Produktinformation).

Um die Wurzeloberfläche zu schonen, bedarf es genauer Kenntnis der Funktionsweise schwingender Systeme sowie richtiger Handhabung und Systematik in der Vorgehensweise (Graetz et al. 2015). Der Substanzabtrag wird von Faktoren wie der Lokalisation der Zähne, der Form der Arbeitsspitze oder dem lateralen Anpressdruck beeinflusst (Kocher et al. 2000). In ihrer Anwendung erzielen maschinelle und manuelle Verfahren vergleichbare klinische Ergebnisse (Tunkel et al. 2002, Van der Weijden & Timmerman 2002). Auch im Hinblick auf die Wundheilung nach der Parodontaltherapie ergeben sich keine signifikanten Unterschiede (Christgau et al. 2007). Gegenüber den Handinstrumenten wird die Durchführung mittels hochfrequenter oszillierender Instrumente von den Patienten als angenehmer empfunden (Braun et al. 2003). Eine mögliche Wechselwirkung schwingender Systeme mit Herzschrittmachern ist bei neueren Geräten umstritten (Flemmig & Petersilka 2003). Auch hinsichtlich der Oberflächenrauigkeit gehen die Meinungen auseinander (Kawashima et al. 2007, Singh et al. 2012). Ebenso bei der Frage, ob das magnetostriktive oder piezoelektrische Verfahren angewendet werden sollte (Busslinger et al. 2001).

1.3.4 Alternative Therapieverfahren

Eine weitere Behandlungsoption in der Parodontaltherapie besteht in dem Einsatz des Er:YAG Lasers (Frentzen et al. 2005). Dieser ist laut Empfehlungen für die Bearbeitung der Wurzeloberfläche am besten geeignet (Dederich & Bushick 2004). Als Monotherapie bei chronischer Parodontitis angewandt, stimmen die Ergebnisse mit denen der konventionellen Therapie überein (Schwarz et al. 2008). In anderen Fällen wird der Laser eher ergänzend nach Scaling und Root Planing zur Beseitigung der Bakterien eingesetzt (Brink & Romanos 2007). Auch wenn viele parodontopathogene Erreger auf die Laserstrahlung ansprechen, konnte *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bisher nicht eliminiert werden (Derdilopoulou et al. 2007). Eine weitere Möglichkeit bietet die antimikrobielle photodynamische Therapie, wobei Studien eher von relevanten Kurzzeitergebnissen bezüglich klinischen Variablen

berichten (Braun et al. 2008, Christodoulides et al. 2008). Andere wiederum konnten keinen zusätzlichen Effekt beobachten und empfehlen die Anwendung der photodynamischen Therapie als adjuvante Maßnahme, da harte Auflagerungen nur durch mechanische Reinigung zu beseitigen sind (Gonzalez-Munoz et al. 2011).

2 Aufgabenstellung / Ziel der Studie

- Das Ziel dieser Studie war es, das Behandlungsergebnis eines bei allen Probanden einheitlich durchgeführten Scaling und Root Planing anhand von klinischen Variablen und zwölf Bakterien des subgingivalen Biofilms zu untersuchen. Dabei sollte derjenige Marker herausgefiltert werden, der eine Vorhersage auf das Therapieergebnis nach SRP ermöglicht.
- Weiterhin galt es Zusammenhänge zwischen dem Vorhandensein von Mikroorganismen des subgingivalen Biofilms und dem Behandlungsergebnis zu ermitteln.

3 Material und Methoden

Die Genehmigung des Studienprotokolls wurde von der Ethikkommission (#AZ133-12-16042012) der medizinischen Fakultät des Universitätsklinikums Leipzig erteilt. Insgesamt wurden 55 Probanden begutachtet, von denen 46 eine Einwilligungserklärung unterzeichneten, nachdem in verständlicher Form die Ziele und Studiendurchführung sowie entsprechende Vorteile aber auch mögliche auftretende Unannehmlichkeiten ausführlich mündlich erläutert wurden.

3.1 Durchführung klinischer Befunderhebung

Die klinischen Variablen Sondierungstiefe, Attachmentlevel sowie das Bluten auf Sondieren wurden an allen Zähnen der Probanden erfasst. Dabei erfolgte die Befunderhebung an sechs Stellen je Zahn, wobei vestibulär und oral die Werte jeweils distal, medial und mesial gemessen wurden.

Für die Bestimmung der Sondierungstiefe wurde ein Parodontometer UNC 15 (Hu Friedy, Rotterdam, Niederlande) unter Zahnkontakt in die Zahnfleischtasche eingebracht. Mit einem schonungsvollen Druck von 0,25 N wurde das Messinstrument nach apikal in Richtung Taschenfundus vorgeschoben. Anhand der Millimeterskalierung wurde der Abstand vom Margo gingivae zum Taschenboden gemessen. Den Attachmentlevel bildete der Abstand von der Schmelz-Zement-Grenze bis zum Taschenboden. Auch die Variable BOP wurde mit dem Parodontometer UNC 15 (Hu Friedy, Rotterdam, Niederlande) nach Einbringung in den Gingivasulkus ermittelt. Anschließend wurde das Auftreten oder die Abwesenheit einer Blutung bewertet und die Anzahl gemessener Blutungspunkte im Verhältnis zu den gesamt gemessenen Stellen in Prozent berechnet. Die Erhebung des Approximalraum-Plaquesindex (Lange et al. 1977) beruhte auf visueller Bewertung dentaler Plaque nach Anfärben aller Zähne mit Mira-2-Ton Färbelösung (Hager & Werken, Duisburg, Deutschland). Die Plaqueansammlung wurde je Zahnzwischenraum dokumentiert. Die Summe der mit Biofilm versehenen Flächen gegenüber der Gesamtanzahl untersuchter Stellen ergab den aktuellen API.

3.2 Patientenauswahl und Studiendesign

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte gemäß Armitage (1999), wobei nur Probanden mit moderater bis schwerer chronischer Parodontitis in die Studie eingeschlossen wurden. Anhand des klinischen Attachmentlevels werden beide Erkrankungsformen (moderat 3 mm bis 4 mm und schwer ≥ 5 mm) voneinander unterschieden. Desweiteren kann dem Ausmaß der Progression entsprechend eine Einteilung in die lokalisierte (weniger als 30 % der Zahnflächen betroffen) und die generalisierte Form (mehr als 30 % der Zahnflächen betroffen) erfolgen (Armitage 1999). Neben der Bildung von Zahnfleischtaschen und gingivalen Rezessionen, kann der charakteristische Attachmentverlust zu erhöhter Zahnmobilität führen. Der progressive Abbau des parodontalen Halteapparates kann langsam oder mäßig, aber auch phasenweise rasch verlaufen (Lindhe et al. 1999). Lokal ätiologische Faktoren, wie bakterielle Beläge und eine spezielle Mikroflora, stehen im Zusammenhang mit dem Fortschreiten der Destruktion (Schulz et al. 2008, Smith et al. 2010).

Weitere Einschlusskriterien für die Studie waren eine Mindestanzahl von 20 Zähnen in Funktion, ein guter Allgemeinzustand sowie ein Mindestalter von 20 Jahren. Wurde bereits eine Parodontitistherapie bei den Teilnehmern durchgeführt, so sollten seither mindestens zwei Jahre vergangen sein. Bei Patientinnen musste eine mögliche Schwangerschaft zunächst ausgeschlossen werden. Schwangere und stillende Frauen waren nicht geeignet. Ebenso waren eine systemische Antibiotikatherapie während der letzten drei Monate vor Studienbeginn sowie eine antibiotische Endokarditisprophylaxe Gründe zum Studienausschluss. Gleiches galt für Patienten mit Diabetes mellitus oder rheumatoider Arthritis, mentalen oder psychiatrischen Erkrankungen, dauerhafter Einnahme antientzündlicher Medikamente, Bestrahlungstherapie im Kopf- und Halsbereich sowie einer absehbaren notwendigen Parodontalchirurgie während des Studienzeitraumes. Im Zuge der Patientenrekrutierung wurden Angaben wie Geschlecht, Alter, Rauchen (Menge/Dauer), systemische Erkrankungen und parodontale Befunde anonymisiert erfasst und in einem dafür vorgesehenen Befundblatt für die spätere Auswertung dokumentiert.

Alle Untersuchungen und Therapiemaßnahmen wurden von der Promovendin und dem Zahnarzt Dr. Martin Kramesberger durchgeführt. Vor Beginn der Studie wurden die Behandler bezüglich der Erhebung klinischer Daten kalibriert. Im Rahmen der

Diagnostik wurden zunächst die klinischen Befunde PD, AL, API und BOP erhoben und die Stellen für die Probenentnahme ermittelt. Hierbei handelte es sich um die zu diesem Zeitpunkt (Baseline t_0) größten Sondierungstiefen eines jeden Quadranten. Für die mikrobiologische Analyse wurden Papierspitzen der Größe Iso 50 (Roeko GmbH & Co KG, Langenau, Deutschland) in die Zahnfleischtaschen eingebracht, bis ein leichter Widerstand zu spüren war und für 30 Sekunden dort belassen. Unmittelbar nach der Entnahme wurden alle vier Papierspitzen in einem Eppendorf®-Reaktionsgefäß (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) gepoolt und bei -20°C gelagert. Die Gewinnung des Probenmaterials geschah unter relativer Trockenlegung mit Hilfe von Watterollen. Die anschließende Auswertung fand im Labor für Orale Mikrobiologie der Poliklinik für Parodontologie der Universität Bern statt.

Nach erfolgreicher Probengewinnung erhielten alle Patienten im Rahmen der Initialtherapie zwei Prophylaxe- und Instruktionssitzungen. Die professionelle Zahnreinigung wurde mit Handinstrumenten, Schall- und Ultraschallscalern sowie Pulverstrahlgeräten durchgeführt. Zur besseren Hygienisierung wurden insuffiziente Füllungs- und Restaurationsränder geglättet und Plaqueretentionsstellen beseitigt. Abschließend wurden alle Zähne mit fluoridhaltiger Paste und Gummikelch poliert. Die Probanden wurden über die Ätiologie der Erkrankung und den Stellenwert einer guten Mundhygiene hinsichtlich des Behandlungserfolges aufgeklärt. Die Mundhygienedefizite wurden aufgezeigt und eine optimale Putztechnik mit geeigneten Hilfsmitteln demonstriert. Der Erfolg wurde kontrolliert und die Teilnehmer wiederholt instruiert und motiviert.

Nach der Entfernung supragingivaler Beläge schloss sich die mechanische Beseitigung des subgingivalen Biofilms an. Bei allen Probanden wurde standardmäßig das Scaling und Root Planing mit Hand- und Ultraschallinstrumenten in zwei Sitzungen innerhalb von 24 Stunden durchgeführt. Während dieser full mouth Behandlung erfolgte die Schmerzkontrolle mit einem Articainhydrochlorid (Ultracain D-S, Sanofi-Aventis, Frankfurt/ Main, Deutschland). Im Anschluss sollte zweimal täglich, über einen Zeitraum von sieben Tagen, mit 10 ml Chlorhexidindigluconat (Chlorhexamed® Forte alkoholfrei 0,2 % Lösung, GlaxoSmithKline Healthcare, London, England) für eine Minute gespült werden. Nach drei (t_1) und sechs Monaten (t_2) wurden die klinischen Variablen PD, AL, API und BOP erneut erhoben und mikrobiologische Proben wiederholt gewonnen. Zu selbigen Unter-

suchungszeitpunkten wurden die Probanden im Rahmen der unterstützenden Parodontitistherapie (UPT) behandelt sowie remotiviert und reinstruiert.

Die sich anschließenden Abbildungen 2 - 4 veranschaulichen den zeitlichen Ablauf der Studie sowie die Vorgehensweise bei der Probenentnahme.

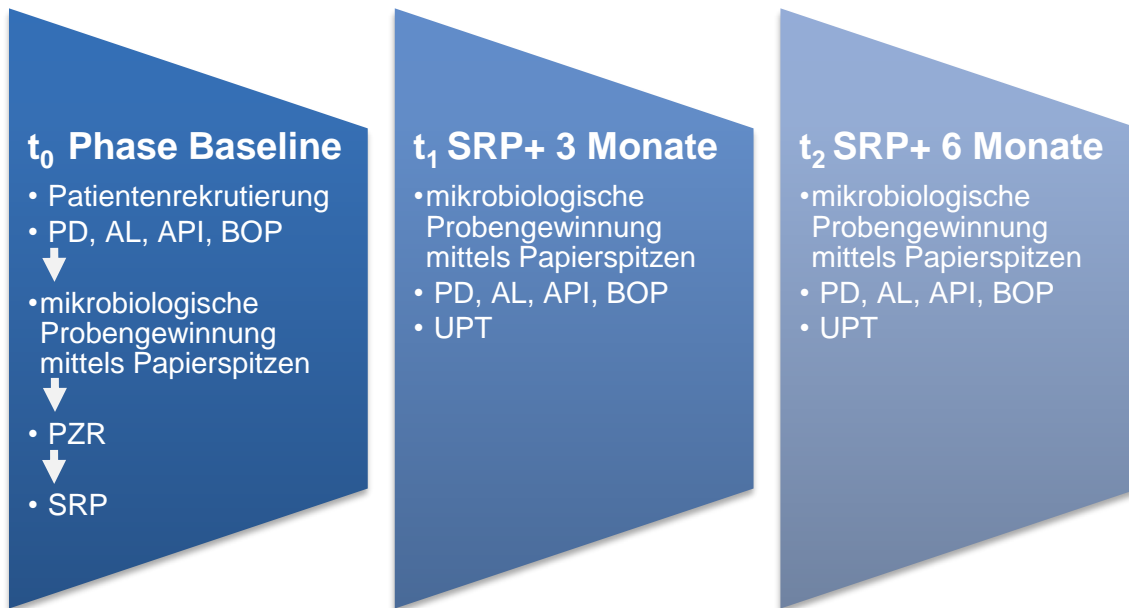


Abbildung 2: Zeitstrahl Studiendesign



Abbildung 3: Applikation der Papierspitze in die parodontale Tasche



Abbildung 4: Eppendorf®-Reaktionsgefäß mit 4 Papierspitzen

3.3 Mikrobiologische Analyse

Zur Bestimmung der Mikrobiota wurde von den gewonnenen Papierspitzen aus der Zahnfleischtasche zunächst die DNA, unter Verwendung der Chelexmethode (Yang et al. 2008), extrahiert und anschließend der micro-IDent®plus Test durchgeführt. *Filifactor alocis* wurde mithilfe der real-time PCR ermittelt.

3.3.1 Durchführung der DNA Extraktion durch Anwendung der Chelexmethode

Die schnelle Isolierung der DNA durch die Chelexmethode ist weit verbreitet und wird aufgrund der einfachen Handhabung in den meisten Fällen favorisiert. Das Extraktionsverfahren beruht auf der Bildung von Chelatkomplexen, wobei das aus Kunstharzpartikeln bestehende Chelex® 100 (Bio-Rad Laboratories, Kalifornien, USA) als Chelator agiert und bivalente Ionen wie Ca^{2+} und Mg^{2+} bindet. Folglich kommt es zur Denaturierung unerwünschter Enzyme wie DNasen und es werden Ca^{2+} -abhängige Strukturkomponenten wie das Cytoskelett und extrazelluläre Strukturproteine inaktiviert und die gesamte Zelle wird destabilisiert. Würden die DNasen nicht zerstört werden, so könnten sie als Katalysator wirken und beim Abkochen die DNA beschädigen. Die Bindung der Metallionen verhindert also die Degradation und schützt die DNA (Walsh et al. 1991).

Durchführung der DNA-Extraktion

Die in vorliegender Studie verwendete Chelexlösung wurde zunächst wie folgt hergestellt:

- 50 g Chelex® 100 # 143-2832 in 10 ml Tris (pH 8,4 AppliChem) lösen
- mit dH_2O auf 1 l auffüllen

Die Chelexlösung wurde zunächst auf dem Rührer gut gemischt und anschließend zu den Papierspitzen gegeben, wobei die Mengenangabe variierte. Auf 1 - 3 Spitzen applizierte man 200 μl Lösung und bei 4 Probenspitzen bedurfte es der Zugabe von 400 μl Chelexlösung. Es folgte ein 15-minütiger Aufenthalt im Ultraschallwasserbad (Transsonic Digital S, Modell T710DH, Fa. Elma Electronic AG, Wetzikon, Schweiz) mit einer „Ultrasound Power“-Einstellung von 100. Hierbei gibt das Gerät 137 Watt ab, wobei etwa 120 W das Wasser erreichen. Im Heizblock (Thermomixer 5436,

Fa. Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) wurden die Proben danach bei 99°C für 15 min inkubiert. Anschließend wurden sie durch die zehnmütige Lagerung im Kühlschrank heruntergekühlt. Nach gutem Durchmischen folgte ein letztes Zentrifugieren für eine Minute bei maximaler Geschwindigkeit (20'000 g). Der entstandene DNA-Extrakt wurde in ein neues Eppendorf®-Reaktionsgefäß pipettiert und konnte direkt in der PCR eingesetzt werden.

3.3.2 Nachweis parodontopathogener Bakterien mittels micro-IDent®plus Test

Der micro-IDent®plus Test beruht auf der DNA Strip®-Technologie und erlaubt die gemeinsame molekulargenetische Identifizierung von elf parodontopathogenen Markerkeimen: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum/ necrophilus*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens* und *Capnocytophaga spp* (*C. gingivalis*, *C. ochracea* und *C. sputigena*). Das molekularbiologische Testverfahren zeichnet sich durch die einfache Probenentnahme sowie die hohe diagnostische Sensitivität und Spezifität aus (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Deutschland). In einer wissenschaftlichen Studie konnte dies bestätigt werden (Eick & Pfister 2002).

Der Testablauf unterteilte sich in drei Phasen: DNA-Extraktion aus subgingivalen Plaqueproben (wie oben beschrieben), zwei separate Multiplex-Amplifikationen mit Biotin-markierten Primern und eine gemeinsame reverse Hybridisierung.

Multiplex-Amplifikation (PCR)

Jede Probe durchlief zwei getrennte Amplifikationsreaktionen. Alle Pipettierschritte erfolgten, wie vom Hersteller empfohlen, auf Eis. Zunächst wurden zwei Mastermixe frisch angesetzt, die jeweils aus Puffersubstanz, spezifischen Primern, Nukleotiden, Taq-Polymerase sowie Salzen und Farbstoffen bestanden. Der eine Mix amplifizierte die DNA von *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* sowie *T. denticola* und der andere die DNA der übrigen sechs Keime. Von jedem der beiden Ansätze wurden entsprechend 22,5 µl in die vorbereiteten PCR-Gefäße gegeben und mit 2,5 µl der isolierten bakteriellen DNA-Lösung versetzt. Für die

Negativkontrolle wurden separat nochmal 22,5 µl aliquotierter Mastermix 1 und dieselbe Menge Mastermix 2 mit jeweils 2,5 µl Wasser versehen. Die PCR verlief unter Verwendung des Thermocyclers von Hain Lifescience folgendermaßen:

- Initiale Denaturierung: 5 min bei 95°C
- 10 Zyklen: Denaturierung 30 s bei 95°C,
Annealing für 2 min bei 58°C
- 20 Zyklen: Denaturierung 25 s bei 95°C,
Annealing für 40 s bei 53°C,
Polymerisation 40 s bei 70°C
- Elongation: 8 min bei 70°C

Die Polymerasekettenreaktion (PCR) vervielfältigte die DNA der beim Patienten vermuteten Markerkeime.

Hybridisierung

Das Testkit enthielt hierfür:

- Membranstreifen (STRIP®) mit spezifischen Gensonden
- Denaturierungsreagenz: Farbstoff, < 2 % NaOH
- Hybridisierungspuffer: 8-10 % anionisches Tensid, Farbstoff
- Stringent-Waschlösung: > 25 % quartäre Ammoniumverbindung,
< 1 % anionisches Tensid, Farbstoff
- Rinse-Lösung: Puffersubstanz, < 1 % NaCl,
< 1% anionisches Tensid
- Konjugat-Konzentrat: Streptavidin-konjugierte alkalische Phosphatase,
Farbstoff
- Konjugat-Puffer: Puffersubstanz, 1 % Blocking Reagenz, < 1 % NaCl
- Substrat-Konzentrat: Dimethylsulfoxid, Substratlösung
- Substrat-Puffer: Puffersubstanz, < 1 % MgCl₂, < 1 % NaCl
- Schablone

Die im Anschluss folgende Hybridisierung umfasste im ersten Schritt die chemische Denaturierung der Amplifikationsprodukte, da nur anhand von Einzelstrang-DNA die Detektion auf dem DNA-STRIP® möglich war. Das Wasserbad wurde zunächst auf 45°C erhitzt und die jeweils benötigten Mengen an Stringent-Waschlösung und Hybridisierungspuffer darin erwärmt. Sowohl Konjugat-Konzentrat als auch Substrat-

Konzentrat wurden mit ihrem zugehörigen Puffern entsprechend verdünnt und bei Raumtemperatur gelagert. Auch die Rinse-Lösung wurde nach Entnahme aus dem Kühlschrank bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nun wurden 20 µl des PCR-Produkts und 20 µl der Denaturierungs-Reagenz in einer Wannenkavität vermischt und für fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Es folgte die Zugabe von 1 ml des vorgewärmten Hybridisierungspuffers. Dabei sollte die Wanne geschwenkt werden, bis sich die Lösung homogen färbte. Jede benutzte Kavität wurde dann mit einem Membranstreifen (STRIP®) versehen. Während dieser Hybridisierung erfolgte die Bindung der selektiv amplifizierten Nukleinsäuren der Lösung an die jeweils komplementären Sonden des DNA-STRIP®. Im Schüttelwasserbad wurde dann bei 45°C für 30 Minuten inkubiert. Mit Hilfe einer, an ein Vakuum angeschlossenen, Pasteurpipette wurde der Hybridisierungspuffer anschließend vollständig entfernt. Nachdem 1 ml der vorgewärmten Stringent-Waschlösung zugegeben wurden, schloss sich ein erneutes Waschen bei 45°C für 15 Minuten unter leichtem Schütteln an. Die darauffolgenden Arbeitsschritte fanden ausschließlich bei Raumtemperatur statt. Es galt nun, die Stringent-Waschlösung sowie jegliche Flüssigkeitsreste wieder vollständig zu beseitigen. Im Anschluss wurden die Membranstreifen eine Minute mit 1 ml Rinse-Lösung auf dem Horizontalschüttler gewaschen und die Lösung gleich danach wieder abgeschüttet. Dann pipettierte man 1 ml verdünntes Konjugat hinzu und auf selbigem Schüttler wurde für 30 Minuten inkubiert. Während dieser Konjugat-Reaktion trat das spezifisch gebundene Amplifikat mit der Konjugatlösung, welche das Enzym Streptavidin-alkalische Phosphatase (AP) enthält, in Wechselwirkung. Ein Waschen der Membran mit 1 ml verdünnten Substrat schloss sich an. Die lichtgeschützte Inkubationszeit variierte abhängig von den Testbedingungen zwischen 3 und 20 Minuten. Waren die Banden deutlich sichtbar, konnte die Reaktion durch das zweimalige Auswaschen mit destilliertem Wasser gestoppt werden. Die Substrat-Reaktion ermöglichte somit den visuellen Nachweis der Bakterien beruhend auf einer durch alkalische Phosphatase vermittelten Farbreaktion (Hain Lifescience, Nehren, Deutschland).

Auswertung des DNA-STRIP®s

Die Teststreifen konnten durch eine mitgelieferte Schablone verglichen und semiquantitativ ausgewertet werden. Wie die folgende Abbildung 5 zeigt, wurden die Konzentrationen rein visuell bestimmt. Da die Intensität der Banden variierte, ergaben sich auch unterschiedliche Ergebnisse. Die Werte reichten von kaum nachweisbar, über moderates Auftreten, bis hin zu stark erhöhten Keimkonzentrationen. Insgesamt sind 15 Reaktionszonen auf dem Membranstreifen vorhanden, wobei je nach Vorkommen und Farbreaktion eine Bande sichtbar wurde. Weiterhin finden sich auf der Schablone zwei Amplifikationskontrollen (AC1 + AC2). Bei Sichtbarkeit beider Amplifikationskontrollzonen können Fehler beim Ansatz oder der Versuchsdurchführung ausgeschlossen werden. Auch eine Konjugatkontrollzone (CC) ist vorhanden. Sie signalisiert eine erfolgreiche Konjugatbindung sowie Substratreaktion. Den Abschluss bildet die Farbmarkierung (M). Sie dient der Orientierung, damit man die Oberseite der Schablone erkennt und die untere Position ausmachen kann.

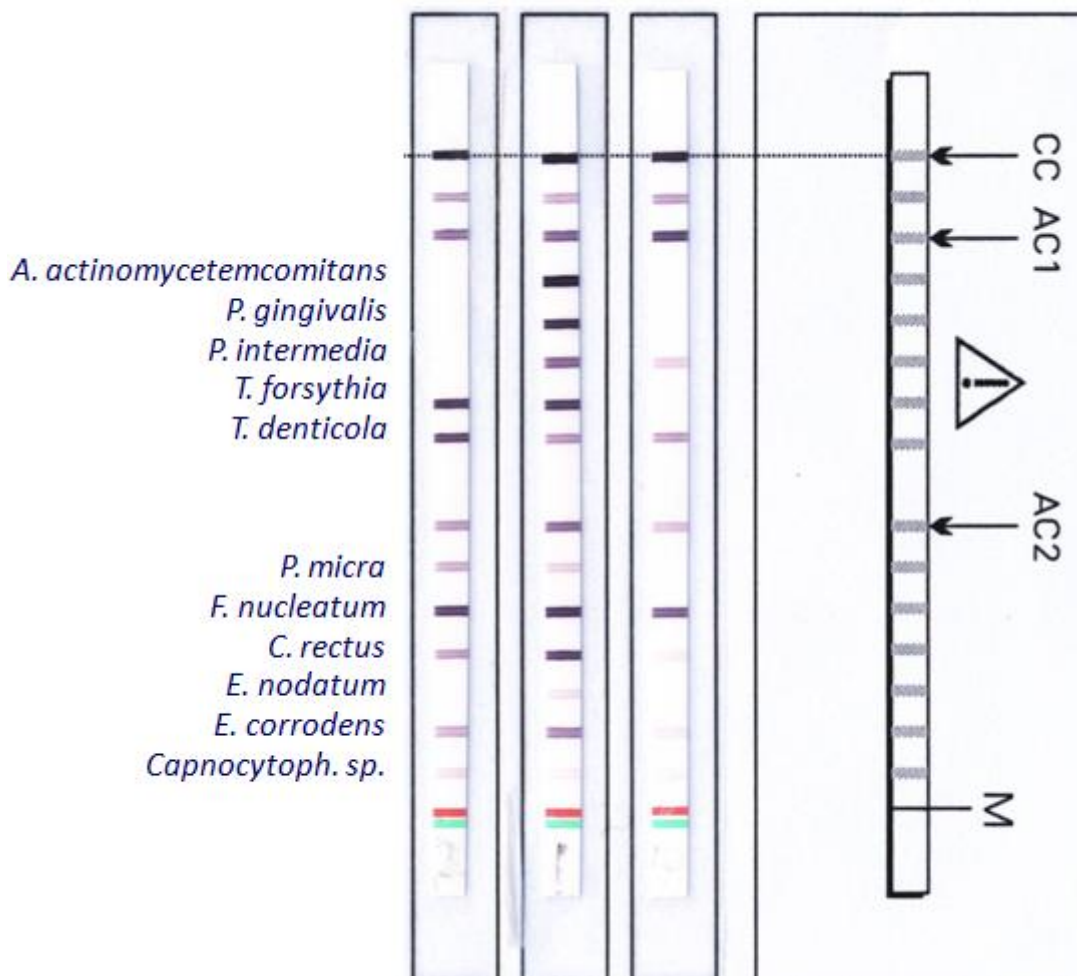


Abbildung 5: Teststreifen und Schablone (Quelle: Frau Prof. Eick, Bern)

Das Vorkommen der Mikroorganismen in Kategorien

Hierbei erfolgte die Einteilung nach der Stärke der sich entwickelnden Bande und wurde von zwei unabhängigen Personen aus dem Labor für Orale Mikrobiologie (Universität Bern) visuell bestimmt. Es erfolgte ein Vergleich mit der Kontroll-Hybridisierungsbande und die Kategorien beliefen sich auf:

- kein Nachweis
- wenig Nachweis
- moderate Zahlen
- hohe Zahlen

Die Sensitivität des Tests liegt bei 10^3 für *A. actinomycetemcomitans*. Für alle anderen Mikroorganismen erfolgte die Einteilung beginnend bei 10^4 . Die quantitativen Ergebnisse wurden wie folgt kategorisiert: 10^4 / Probe = 1, 10^5 / Probe = 2 und $\geq 10^6$ / Probe = 3.

3.3.3 Nachweis von *Filifactor alocis* mittels real-time PCR

Mithilfe der real-time PCR kann durch den Einsatz fluoreszenzmarkierter oder speziesspezifischer Primer und Sonden die Quantifizierung der in einer Probe enthaltenen DNA erfolgen. In dieser Studie kam sie zur Speziesbestimmung zum Einsatz (Siqueira & Rôças 2004). Die verwendeten Primer waren:

F_aloc_1: CAG GTG GTT TAA CAA GTT AGT GG

F_aloc_2: CTA AGT TGT CCT TAG CTG TCT CG

und der Kontrollstamm, von dem eine Verdünnungsreihe von 10^7 bis 10^2 (Bakterien) hergestellt wurde, war *Filifactor alocis* ATCC 35896.

Die Durchführung erfolgte wiederum im Labor für Orale Mikrobiologie der Poliklinik für Parodontologie der Universität Bern unter Verwendung des GoTaq® qPCR Master Mix (Promega Corporation, Madison/ Wisconsin, USA) entsprechend den Angaben des Herstellers. Bei diesem System handelt es sich um ein 2X qPCR Master Mix, der alle Komponenten wie Primer, Wasser und die Proben-DNA umfasst. In einem 50 µl Reaktionsansatz sollten laut Protokoll 20 % der zu untersuchenden DNA enthalten sein (10 µl DNA, 40 µl Reaktionsmix). Die DNA Verdünnungsreihe sollte in nuklease-freies Wasser gegeben und bis zur Verwendung auf Eis gelagert werden.

Anschließend wurden 10 µl der Probe den entsprechenden Wells der Reaktionsplatte zugeführt. Der GoTaq® qPCR Master Mix wurde bei Raumtemperatur aufgetaut und kurz auf dem Vortexgerät durchmischt. Ein Aufschäumen sollte hierbei vermieden werden. Im Anschluss wurde der Reaktionsmix bestehend aus GoTaq® qPCR Master Mix, nukleasefreiem Wasser sowie PCR Primern angesetzt und jeweils 40 µl dieses Reaktionsgemisches den bereits vorbereiteten Kavitäten der Reaktionsplatte zugefügt. Bei niedriger Geschwindigkeit wurde dann für 1 Minute zentrifugiert. Abschließend wurde die Reaktionsplatte in den Thermocycler gegeben und das Ergebnis mittels Schmelzkurvenanalyse geprüft.

3.4 Gruppenzuordnung

Die 60%ige Reduktion der Anzahl aller Zahnfleischtaschen mit PD > 4 mm sechs Monate nach SRP diente als Abgrenzung der Probanden mit einem stark positiven Behandlungsergebnis (High Response) gegenüber denjenigen mit nur mäßigen Behandlungsergebnis (Low Response). Die Teilnehmer wurden der entsprechenden Gruppe zugeordnet und die Ergebnisse innerhalb und zwischen der High und Low Response Gruppe verglichen.

3.5 Statistische Auswertung

Die Statistischen Analysen erfolgten mit dem Software Programm SAS®9.4 (Statistical Analysis System, USA) und wurden von dem Biomed.- Ing. Walter Bürgin an der Universität Bern durchgeführt. Zunächst erfolgte die deskriptive Statistik aller Teilnehmer. Die klinischen Variablen wurden innerhalb jeder Gruppe (Median, Minimum, Maximum) über den Studienzeitraum t_0 - t_2 ermittelt und dann zwischen diesen Gruppen verglichen. Der Mann-Whitney-U-Test wurde für den Vergleich zwischen den Gruppen angewendet. Innerhalb der Gruppe war es der Wilcoxon-Test. Im Falle der Mikrobiologie kam zwischen den Gruppen der Fisher-Exakt-Test zur Anwendung. Innerhalb der Gruppen ließen sich die Werte zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten mit dem McNemar-Test ermitteln. Das Signifikanzniveau wurde bei $p \leq 0,05$ angesetzt.

4 Ergebnisse

4.1 Studienteilnehmer

Das Durchschnittsalter aller Probanden betrug $55,41 \pm 9,79$ Jahre. 21 Teilnehmer waren männlichen Geschlechts und 25 waren weiblich. 19 Probanden waren Raucher, von denen 17,3 % mehr als 10 Zigaretten am Tag konsumierten. 58,7 % waren Nichtraucher. Die Gruppen wiesen im Vergleich kaum Unterschiede bezüglich der Altersverteilung und des Geschlechts auf. Lediglich der Anteil an Nichtrauchern war in der High Response Gruppe niedriger.

Die Tabelle 1 veranschaulicht die demographischen Daten der Studienteilnehmer. Weiterhin gibt sie Auskunft über die klinischen Variablen zum Zeitpunkt Baseline unabhängig von der Gruppeneinteilung.

Tabelle 1: Charakterisierung der Studienteilnehmer

Gesamt n = 46			Low Response n = 26	High Response n = 20
Geschlecht (n)	männlich	21	11	10
	weiblich	25	15	10
Alter (Jahre)	Mittelwert	$55,4 \pm 9,79$	$55,07 \pm 11,40$	$55,85 \pm 7,44$
	Median	53	53	53,5
	Spanne	33 - 77	33 - 76	48 - 77
Raucherstatus (n)	Nichtraucher	27	18	9
	≤10 Zig /Tag	11	5	6
	>10 Zig /Tag	8	3	5
\bar{x}; PD (mm)	\bar{x}; ± S	$3,96 \pm 0,58$		
Stellen PD > 4 mm		$93,00 \pm 25,61$		
AL (mm)		$4,90 \pm 0,77$		
BOP (%)		$46,91 \pm 13,99$		
API (%)		$52,43 \pm 12,79$		

Die Anzahl aller Stellen mit einer gemessenen Sondierungstiefe > 4 mm lag bei 93,00 mit einer Standardabweichung von $\pm 25,61$. Für die klinische Variable PD betrug der Mittelwert $3,96 \pm 0,58$ mm. Zur Baseline-Untersuchung konnte ein BOP von $46,91 \pm 13,99$ % ermittelt werden. Für den API ergaben sich $52,43 \pm 12,79$ %.

4.2 Klinische Variablen

4.2.1 Klinische Variablen zu den Zeitpunkten Baseline (t_0), 3 Monate nach SRP (t_1) sowie 6 Monate nach SRP (t_2) innerhalb der Gruppen und im Gruppenvergleich

Die Tabelle 2 zeigt die klinischen Variablen zu den drei Untersuchungszeitpunkten innerhalb der Gruppen und im Vergleich. Dargestellt ist der Median sowie das jeweilige Minimum und Maximum.

Tabelle 2: Klinische Variablen im Gruppenvergleich zu t_0 , t_1 und t_2

	t_0	Min; Max	t_1	Min; Max	t_2	Min; Max	vs. t_0
AL (mm)							
HR	4,92	3,30; 6,57	3,93	2,62; 5,33	3,60	2,55; 5,14	< 0,001
LR	4,77	3,83; 6,66	4,44	3,46; 5,98	4,11	3,36; 5,68	< 0,001
HR vs. LR	0,287		< 0,001		< 0,001		
BOP (%)							
HR	44,2	30,2; 75,0	30,9	20,0; 43,3	19,9	12,0; 32,7	< 0,001
LR	45,8	23,3; 84,2	34,6	20,3; 60,0	20,5	11,2; 39,3	< 0,001
HR vs. LR	0,313		0,099		0,195		
API (%)							
HR	51	35; 77	32	22; 46	23,5	14; 31	< 0,001
LR	53	35; 82	36	21; 58	22,5	18; 38	< 0,001
HR vs. LR	0,249		0,222		0,475		
PD Stellenanzahl > 4 mm							
HR	78	41; 135	26,5	12; 72	17	4; 40	< 0,001
LR	101	36; 155	85	24; 124	61	16; 97	< 0,001
HR vs. LR	0,053		< 0,001		< 0,001		
PD $x;^-$ (mm)							
HR	3,78	3,12; 4,71	2,99	2,37; 3,46	2,78	2,29; 3,28	< 0,001
LR	3,95	2,97; 5,25	3,61	2,85; 4,36	3,38	2,72; 3,80	< 0,001
HR vs. LR	0,184		< 0,001		< 0,001		

Der Wilcoxon-Test ergab in beiden Gruppen zu jedem Untersuchungszeitpunkt eine signifikante Abnahme der zu Baseline erhobenen Werte für alle klinischen Variablen ($p < 0,001$). Der Mann-Whitney-U-Test ließ signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zu den Zeitpunkten t_1 ($p < 0,001$) und t_2 ($p < 0,001$) für die Variablen AL, PD sowie die Stellenanzahl PD ermitteln. Für BOP und API waren im Gruppenvergleich zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede feststellbar.

4.3 Nachweis der Mikroorganismen aus dem subgingivalen Biofilm innerhalb der Gruppen und im Gruppenvergleich

Zwölf Markerkeime wurden ermittelt. Zum Zeitpunkt t_1 konnte eine Probe der High Response Gruppe nicht ausgewertet werden. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen dargestellt.

Die Tabellen 3 und 4 veranschaulichen neben der Auswertung der mikrobiologischen Analyse das Vorkommen von *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in Kategorien.

Tabelle 3: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *A. actinomycetemcomitans*

<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>					
	High Response n = 20		Low Response n = 26		HR vs. LR
	positiv (%)	vs. t_0	positiv (%)	vs. t_0	
t_0	5 (25,0)		1 (3,9)		0,047
t_1	3 (15,8)	0,317	4 (15,4)	0,083	0,641
t_2	5 (25,0)	1,000	5 (19,2)	0,046	0,543

Tabelle 4: Nachweis des Mikroorganismus *A. actinomycetemcomitans* in Kategorien

	High Response Gruppe				Low Response Gruppe				p ≤ 0,05
	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	
t_0	15	2	1	2	25	0	0	1	0,110
t_1	16	0	0	3	22	0	2	2	0,455
t_2	15	0	1	4	21	2	2	1	0,261

Die statistische Auswertung (siehe Tabelle 3) zeigte in der Low Response Gruppe zum Zeitpunkt t_2 ($p = 0,046$) einen signifikanten Unterschied gegenüber Baseline.

In der High Response Gruppe waren keine signifikanten Veränderungen zwischen den Untersuchungszeitpunkten feststellbar. Der Fisher-Exakt-Test ergab zum Zeitpunkt Baseline ($p = 0,047$) einen signifikanten Unterschied zwischen den Vergleichsgruppen.

Der Nachweis des Bakteriums in Kategorien blieb im Vergleich ohne signifikanten Unterschied (siehe Tabelle 4).

In den Tabellen 5 und 6 sind die Testergebnisse von *Porphyromonas gingivalis* für die Gruppen im Einzelnen und gegenüberstellend aufgeführt sowie der Nachweis des Bakteriums in Kategorien.

Tabelle 5: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *P. gingivalis*

<i>Porphyromonas gingivalis</i>					
	High Response n = 20		Low Response n = 26		HR vs. LR
	positiv (%)	vs. t ₀	positiv (%)	vs. t ₀	
t ₀	15 (75,0)		18 (69,2)		0,463
t ₁	5 (26,3)	0,003	17 (65,4)	0,655	0,010
t ₂	5 (25,0)	0,002	15 (57,7)	0,180	0,027

Tabelle 6: Nachweis des Mikroorganismus *P. gingivalis* in Kategorien

	High Response Gruppe				Low Response Gruppe				p ≤ 0,05
	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	
t ₀	5	1	5	9	8	1	7	10	0,963
t ₁	14	0	3	2	9	4	4	9	0,029
t ₂	15	0	3	2	11	4	7	4	0,127

Die Tabelle 5 zeigt, dass der McNemar-Test einen signifikanten Unterschied in der High Response Gruppe zu t₁ ($p = 0,003$) und t₂ ($p = 0,002$) gegenüber Baseline hervorbrachte. Zu keinem Zeitpunkt waren signifikante Veränderungen für die Low Response Gruppe zu bestimmen. In der Gegenüberstellung blieb nur zu Baseline keine Signifikanz zu ermitteln. Mit $p = 0,010$ und $p = 0,027$ führte der Fisher-Exakt-Test zu signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen nach drei Monaten und sechs Monaten infolge Scaling und Root Planing.

Der Tabelle 6 ist zu entnehmen, dass sich zum Zeitpunkt t_1 ($p = 0,029$) im Vergleich ein signifikanter Unterschied ergab.

Veranschaulicht sind in den folgenden Tabellen 7 und 8 die Ergebnisse von *Tannerella forsythia* nach mikrobiologischer Analyse sowie der Nachweis des Bakteriums in Kategorien.

Tabelle 7: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *T. forsythia*

<i>Tannerella forsythia</i>					
	High Response n = 20		Low Response n = 26		HR vs. LR
	positiv (%)	vs. t_0	positiv (%)	vs. t_0	
t_0	19 (95,0)		23 (88,5)		0,410
t_1	15 (79,0)	0,180	22 (84,6)	0,655	0,456
t_2	13 (65,0)	0,034	23 (88,5)	1,000	0,061

Tabelle 8: Nachweis des Mikroorganismus *T. forsythia* in Kategorien

	High Response Gruppe				Low Response Gruppe				$p \leq 0,05$
	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	
t_0	1	1	6	12	3	2	12	9	0,427
t_1	4	4	6	5	4	0	14	8	0,077
t_2	7	0	8	5	3	4	14	5	0,103

Ein signifikanter Unterschied ($p = 0,034$) ließ sich in der High Response Gruppe sechs Monate nach Scaling und Root Planing gegenüber der Baseline-Untersuchung nachweisen (siehe Tabelle 7). Für die Low Response Gruppe blieb die statistische Auswertung ohne signifikante Veränderung. Auch zwischen den Gruppen blieben signifikante Unterschiede laut Fisher-Exakt-Test aus.

Der Nachweis des Bakteriums in Kategorien war zu keinem Untersuchungszeitpunkt vergleichend signifikant, wie die Tabelle 8 zeigt.

Die Auswertung der mikrobiologischen Analyse ergab die für *Treponema denticola* in Tabelle 9 dargestellten Ergebnisse. Den entsprechenden Nachweis in Kategorien liefert die Tabelle 10.

Tabelle 9: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *T. denticola*

<i>Treponema denticola</i>					
	High Response n = 20		Low Response n = 26		HR vs. LR
	positiv (%)	vs. t ₀	positiv (%)	vs. t ₀	
t ₀	18 (90,0)		19 (73,1)		0,145
t ₁	12 (63,2)	0,059	16 (61,5)	0,180	0,581
t ₂	12 (60,0)	0,034	16 (61,5)	0,180	0,577

Tabelle 10: Nachweis des Mikroorganismus *T. denticola* in Kategorien

	High Response Gruppe				Low Response Gruppe				p ≤ 0,05
	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	
t ₀	2	7	10	1	7	5	13	1	0,421
t ₁	7	5	6	1	10	1	15	0	0,049
t ₂	8	2	10	0	10	8	7	1	0,164

Laut der Tabelle 9 konnte entsprechend dem McNemar-Test für die Datenerhebung zu t₂ (p = 0,034) in der High Response Gruppe ein signifikanter Unterschied gegenüber Baseline bestimmt werden. Für die Low Response Gruppe und den Vergleich HR vs. LR waren zu keinem der drei Untersuchungszeitpunkte signifikante Veränderungen statistisch zu ermitteln.

Wie der Tabelle 10 zu entnehmen ist, war der Nachweis des Mikroorganismus in Kategorien zu t₁ (p = 0,049) im Vergleich signifikant.

Die Tabellen 11 und 12 zeigen die mikrobiologischen Analyseergebnisse von *Prevotella intermedia* für die Vergleichsgruppen und das Vorkommen in Kategorien.

Tabelle 11: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *P. intermedia*

<i>Prevotella intermedia</i>					
	High Response n = 20		Low Response n = 26		HR vs. LR
	positiv (%)	vs. t ₀	positiv (%)	vs. t ₀	
t ₀	10 (50,0)		9 (34,6)		0,227
t ₁	5 (26,3)	0,046	5 (19,2)	0,103	0,416
t ₂	6 (30,0)	0,103	4 (15,4)	0,059	0,203

Tabelle 12: Nachweis des Mikroorganismus *P. intermedia* in Kategorien

	High Response Gruppe				Low Response Gruppe				p ≤ 0,05
	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	
t₀	10	8	2	0	17	3	5	1	0,102
t₁	14	4	1	0	21	3	1	1	0,837
t₂	14	2	4	0	22	2	1	1	0,289

Wie die Tabelle 11 zeigt, ergab in der High Response Gruppe der McNemar-Test zu t₁ mit p = 0,046 einen signifikanten Unterschied gegenüber t₀. Weitere Signifikanzen konnten innerhalb HR und der Gruppe Low Response nicht ermittelt werden. Im Gruppenvergleich blieben entsprechend dem Fisher-Exakt-Test signifikante Unterschiede aus.

Das Vorkommen des Mikroorganismus in Kategorien ergab laut der Tabelle 12 zu keinem Zeitpunkt einen vergleichsweise signifikanten Unterschied.

Die Ergebnisse nach mikrobiologischer Probenauswertung für *Filifactor alocis* sind in der Tabelle 13 aufgeführt. Die sich anschließende Tabelle 14 zeigt den Nachweis in Kategorien.

Tabelle 13: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *F. alocis*

<i>Filifactor alocis</i>					
	High Response n = 20		Low Response n = 26		HR vs. LR
	positiv (%)	vs. t ₀	positiv (%)	vs. t ₀	
t₀	19 (95,0)		20 (76,9)		0,097
t₁	13 (68,4)	0,025	17 (65,4)	0,180	0,385
t₂	13 (65,0)	0,014	16 (61,5)	0,103	0,366

Tabelle 14: Nachweis des Mikroorganismus *F. alocis* in Kategorien

	High Response Gruppe				Low Response Gruppe				p ≤ 0,05
	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	
t₀	1	5	8	6	6	5	9	6	0,438
t₁	6	9	3	1	9	5	10	2	0,185
t₂	7	7	5	1	10	6	9	1	0,844

Gegenüber der Baseline-Untersuchung konnte durch den McNemar-Test für die High Response Gruppe ein signifikanter Unterschied zu t_1 ($p = 0,025$) und t_2 ($p = 0,014$) bestimmt werden (siehe Tabelle 13). Zu keinem Zeitpunkt zeigte die statistische Auswertung für die Low Response Gruppe eine signifikante Veränderung. Auch zwischen den Gruppen ließen sich mittels Fisher-Exakt-Test keine Signifikanzen ermitteln.

Wie der Tabelle 14 zu entnehmen ist, war der Nachweis des Mikroorganismus in Kategorien zu keiner Zeit signifikant.

Nachfolgenden Tabellen 15 und 16 sind die Auswertungen von *Parvimonas micra* zu entnehmen.

Tabelle 15: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *P. micra*

<i>Parvimonas micra</i>					
	High Response n = 20		Low Response n = 26		HR vs. LR
	positiv (%)	vs. t_0	positiv (%)	vs. t_0	
t_0	9 (45,0)		5 (19,2)		0,060
t_1	6 (31,6)	0,084	6 (23,1)	0,564	0,381
t_2	6 (30,0)	0,180	6 (23,1)	0,564	0,422

Tabelle 16: Nachweis des Mikroorganismus *P. micra* in Kategorien

	High Response Gruppe				Low Response Gruppe				$p \leq 0,05$
	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	
t_0	11	7	2	0	21	4	1	0	0,209
t_1	13	6	0	0	20	6	0	0	0,734
t_2	14	6	0	0	20	6	0	0	0,738

Entsprechend der Tabelle 15 ergab die statistische Auswertung zu keinem Untersuchungszeitpunkt einen signifikanten Unterschied sowohl innerhalb der Gruppen als auch im Gruppenvergleich.

Laut der Tabelle 16 brachte auch das Vorkommen in Kategorien zu keinem Zeitpunkt einen vergleichsweise signifikanten Unterschied hervor.

Die Tabelle 17 zeigt die mikrobiologischen Analyseergebnisse von *Fusobacterium nucleatum/ necrophilus*. Die nachfolgende Tabelle 18 stellt das Auftreten in Kategorien dar.

Tabelle 17: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *F. nucleatum/ necrophilus*

<i>Fusobacterium nucleatum/ necrophilus</i>					
	High Response n = 20		Low Response n = 26		HR vs. LR
	positiv (%)	vs. t ₀	positiv (%)	vs. t ₀	
t ₀	19 (95,0)		26 (100,0)		0,435
t ₁	18 (94,7)	1,000	24 (92,3)	-	0,618
t ₂	20 (100,0)	-	25 (96,1)	-	0,565

Tabelle 18: Nachweis des Mikroorganismus *F. nucleatum/ necrophilus* in Kategorien

	High Response Gruppe				Low Response Gruppe				p ≤ 0,05
	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	
t ₀	1	0	10	9	0	1	15	10	0,736
t ₁	1	2	9	7	2	0	14	10	0,453
t ₂	0	2	11	7	1	2	14	9	1,000

Es konnten keine signifikanten Unterschiede für die Gruppen und deren Vergleich zu den drei Zeitpunkten der Datenerhebung ermittelt werden, wie die Tabelle 17 zeigt. Die Tabelle 18 veranschaulicht, dass der Nachweis des Bakteriums in Kategorien keine Signifikanzen hervorbrachte.

In den Tabellen 19 und 20 sind die Werte für *Campylobacter rectus* abgebildet.

Tabelle 19: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *C. rectus*

<i>Campylobacter rectus</i>					
	High Response n = 20		Low Response n = 26		HR vs. LR
	positiv (%)	vs. t ₀	positiv (%)	vs. t ₀	
t ₀	12 (60,0)		16 (61,5)		0,577
t ₁	7 (36,8)	0,100	15 (57,7)	0,706	0,140
t ₂	9 (45,0)	0,317	14 (53,9)	0,414	0,383

Tabelle 20: Nachweis des Mikroorganismus *C. rectus* in Kategorien

	High Response Gruppe				Low Response Gruppe				p ≤ 0,05
	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	
t₀	8	6	3	3	10	6	6	4	0,950
t₁	12	2	3	2	11	3	9	3	0,470
t₂	11	3	2	4	12	6	6	2	0,430

Der Tabelle 19 ist zu entnehmen, dass die statistische Auswertung laut McNemar-Test und Fisher-Exakt-Test keine signifikanten Unterschiede innerhalb der Gruppen und für deren Vergleich ermitteln ließ.

Zu keinem Zeitpunkt ergab sich im Vergleich eine statistische Signifikanz für den Nachweis in Kategorien, wie die Tabelle 20 zeigt.

Den Nachweis über das Vorkommen nach mikrobiologischer Probenauswertung von *Eubacterium nodatum* liefert die Tabelle 21, eine Übersicht über das Auftreten in Kategorien die Tabelle 22.

Tabelle 21: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *E. nodatum*

<i>Eubacterium nodatum</i>					
	High Response n = 20		Low Response n = 26		HR vs. LR
	positiv (%)	vs. t ₀	positiv (%)	vs. t ₀	
t₀	2 (10,0)		1 (3,9)		0,210
t₁	0 (0)	-	2 (7,7)	0,317	0,413
t₂	2 (10,0)	1,000	0 (0)	-	0,558

Tabelle 22: Nachweis des Mikroorganismus *E. nodatum* in Kategorien

	High Response Gruppe				Low Response Gruppe				p ≤ 0,05
	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	
t₀	18	1	1	0	25	1	0	0	0,715
t₁	19	0	0	0	24	2	0	0	0,501
t₂	18	2	0	0	26	0	0	0	0,184

Zu keinem Untersuchungszeitpunkt waren signifikante Unterschiede in den Gruppen und bei deren Vergleich statistisch zu ermitteln (siehe Tabelle 21).

Der Tabelle 22 ist zu entnehmen, dass das Vorkommen des Mikroorganismus in Kategorien im Vergleich nicht signifikant war.

Die Testergebnisse von *Eikenella corrodens* sind in den folgenden Tabellen 23 und 24 zu finden.

Tabelle 23: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *E. corrodens*

<i>Eikenella corrodens</i>					
	High Response n = 20		Low Response n = 26		HR vs. LR
	positiv (%)	vs. t ₀	positiv (%)	vs. t ₀	
t ₀	14 (70,0)		14 (53,9)		0,401
t ₁	11 (57,9)	0,257	13 (50,0)	0,739	0,328
t ₂	12 (60,0)	0,527	15 (57,7)	0,739	0,184

Tabelle 24: Nachweis des Mikroorganismus *E. corrodens* in Kategorien

	High Response Gruppe				Low Response Gruppe				p ≤ 0,05
	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	
t ₀	6	8	6	0	12	10	4	0	0,477
t ₁	8	8	3	0	13	10	3	0	0,844
t ₂	8	5	7	0	11	12	3	0	0,120

Wie die Tabelle 23 deutlich macht, ergaben sich statistisch keine signifikanten Unterschiede in den Gruppen und beim Gruppenvergleich zu den Untersuchungszeitpunkten Baseline, t₁ und t₂.

Zu keinem Zeitpunkt ergab sich, laut Tabelle 24, im Vergleich eine statistische Signifikanz für den Nachweis in Kategorien.

Das Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *Capnocytophaga sputigena* verdeutlicht die Tabelle 25. Der Tabelle 26 ist der Nachweis des Bakteriums in Kategorien zu entnehmen.

Tabelle 25: Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *C. sputigena*

<i>Capnocytophaga sputigena</i>					
	High Response n = 20		Low Response n = 26		HR vs. LR
	positiv (%)	vs. t ₀	positiv (%)	vs. t ₀	
t ₀	10 (50,0)		19 (73,1)		0,098
t ₁	10 (52,6)	1,000	16 (61,5)	0,405	0,545
t ₂	12 (60,0)	0,414	18 (69,2)	0,739	0,528

Tabelle 26: Nachweis des Mikroorganismus *C. sputigena* in Kategorien

	High Response Gruppe				Low Response Gruppe				p ≤ 0,05
	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	kein Nachweis (n)	wenig Nachweis (n)	mod. Zahlen (n)	hohe Zahlen (n)	
t ₀	10	6	3	1	7	17	1	1	0,069
t ₁	9	5	3	2	10	10	6	0	0,391
t ₂	8	6	3	3	8	16	2	0	0,067

In Anbetracht der Tabelle 25 ließen sich signifikante Veränderungen laut statistischer Auswertung innerhalb der Gruppen nicht bestimmen. Auch der Gruppenvergleich blieb ohne signifikanten Unterschied.

Die Tabelle 26 zeigt, dass der Nachweis von *C. sputigena* in Kategorien zu keinem Untersuchungszeitpunkt vergleichsweise signifikant war.

5 Diskussion

Die Parodontaltherapie zielt auf die Reduktion und Eliminierung der verursachenden Mikroflora und somit auf eine Verbesserung der klinischen Situation. Zusätzlich wird die Etablierung eines nichtpathogenen Keimspektrums angestrebt (Petersilka et al. 2002). Die Beseitigung der supra- und subgingivalen Plaquebiofilme stellt eine Grundvoraussetzung für den Erfolg der Parodontitisbehandlung dar. Hierfür ist die im Rahmen des Scaling und Root Planing durchgeführte mechanische Bearbeitung der Wurzeloberfläche als das Mittel der Wahl anzusehen (Jentsch et al. 2001) und kann sowohl mit Handinstrumenten als auch mit Ultraschall- und Schallinstrumenten erfolgen (Obeid et al. 2004, Khosravi et al. 2004). Die gute klinische Wirkweise maschinellen Verfahrens ist der Qualität manueller Instrumentierung gleichzusetzen (Sculean et al. 2004). Das nichtchirurgische Vorgehen kann die klinischen Variablen innerhalb von drei bis sechs Monaten nach der Therapie verbessern. Dementsprechend kommt es zu einer Verringerung der Taschentiefe, Abnahme des BOP sowie klinischen Attachmentgewinn (Heitz-Mayfield et al. 2002). Zusätzlich kann die Verbesserung der Ausgangswerte auf die Reduktion parodontopathogener Mikroorganismen hindeuten (Haffajee et al. 1997, Cugini et al. 2000).

In die vorliegende Studie wurden 46 Patienten mit moderater bis schwerer chronischer Parodontitis eingeschlossen und nach dem gleichen nichtchirurgischen Therapieverfahren behandelt. Das Behandlungsergebnis sollte anhand von klinischen Variablen und zwölf Bakterien des subgingivalen Biofilms untersucht werden. Dabei sollte herausgefiltert werden, welcher prognostische Marker eine Vorhersage für das Therapieergebnis nach SRP liefert und welche Zusammenhänge zwischen dem Vorhandensein von Mikroorganismen des Biofilms und dem Therapieergebnis bestehen.

5.1 Methodenkritik

5.1.1 Probanden

Die randomisiert kontrollierten Studien (randomized controlled trial) gelten in der medizinischen Forschung als nachgewiesen bestes Studiendesign, um eindeutige Aussagen zu erhalten. Sie dienen dem Beleg von Sicherheit und Wirksamkeit einer neuen Therapie (Willich 2006).

In vorliegender Untersuchung erfolgte die Randomisierung der Probanden durch den Statistiker Biomed. - Ing. Walter Bürgin von der Universität Bern.

5.1.2 Probenentnahme

Für die mikrobiologischen Untersuchungen wurde der subgingivale Biofilm mithilfe von sterilen Papierspitzen der Größe Iso 50 (Roeko GmbH & Co KG, Langenau, Deutschland) zu drei Zeitpunkten unter relativer Trockenlegung entnommen. Anders als bei der Gewinnung der subgingivalen Plaque durch Küretten liegt der Vorteil der Papierspitzen-Methode deutlich in der einfacheren Handhabung, wobei sich beide Verfahren im Hinblick auf den Nachweis pathogener Spezies nicht unterscheiden (Jervøe-Storm et al. 2007). Für zuverlässige Ergebnisse sollte, wie in vorliegender Untersuchung angewandt, die Papierspitze direkt in die zu Beginn der Studie ermittelte tiefste Tasche eines jeden Quadranten eingebracht werden (Beikler et al. 2006). Auch die wiederholte Probengewinnung fand stets an selbigen Zahnfleischtaschen statt. Erfolgt die Probenentnahme an weniger Bereichen, so besteht die Gefahr, dass bestimmte Bakterien nicht nachzuweisen sind (Haffajee & Socransky 1992). Die festgelegten vier Entnahmestellen führten nicht nur zu einem repräsentativeren Ergebnis für die pathogene Mikroflora (Loomer 2004), sondern erhöhten die Wahrscheinlichkeit zur Detektion gesuchter Parodontalerreger um 75 % (Haffajee & Socransky 1992).

Die Aufnahmekapazität der Papierspitze wird von der Verweildauer in der Zahnfleischtasche beeinflusst. Laut Hartroth et al. (1999) genügen 5 - 30 s um ausreichend Biofilm zu absorbieren. Somit entsprechen die im Studienprotokoll festgelegten 30 s für den Verbleib der Papierspitze in der Zahnfleischtasche den Empfehlungen für klinische Studien. Für die mikrobiologischen Analysen wurden die Proben gepoolt und bis zur Auswertung in beschrifteten Eppendorf®-Reaktions-

gefäßen (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) bei -20°C aufbewahrt. Das gemeinsame Analysieren aller beim Patienten gesammelten Proben liefert aussagekräftige Ergebnisse hinsichtlich gefundener Keimzahlen (Krigar et al. 2007). Die Poolprobenvariante kann dem Verfahren der Einzelprobenauswertung gleichgestellt werden (Schacher et al. 2007).

5.1.3 Mikrobiologische Analyse

Zwölf parodontopathogene Mikroorganismen wurden in der Studie auf ihr Vorkommen untersucht. Dafür wurde zunächst die DNA durch Anwendung der Chelexmethode extrahiert (Yang et al. 2008). Dieses Verfahren ist besonders geeignet für Spurenmaterial (Walsh et al. 1991), dabei gewährleistet die Vorgehensweise eine schnelle sowie einfache Aufbereitung. Bei dem Vergleich verschiedener Extraktionsverfahren an Blutproben erzielte die Chelexvariante effizientere Ergebnisse (Vandenberg et al. 1997). Ebenso gut schnitt die Methode bei der Untersuchung von Speichelproben ab (Sweet et al. 1996).

Die Identifizierung der Markerkeime erfolgte anschließend mithilfe des microlDent[®]plus Test. Dieses semiquantitative Messverfahren basiert auf einer DNA-Striptechnologie mit einer Abfolge von Amplifikation und gemeinsamer reverser Hybridisierung. Die Ergebnisauswertung erfolgte durch die optische Beurteilung des spezifischen Bandenmusters auf dem Teststreifen. Die Vorgehensweise erfolgte entsprechend den Herstellerangaben, dabei wurden die Abläufe und die Ergebnisauswertung von einem mit mikrobiologischem Verfahren vertrauten Fachpersonal durchgeführt. Der Aufwand für die Probengewinnung ist gering und die hohe Sensitivität, Spezifität sowie präzise Identifikation bakterieller Spezies zählen nachweislich zu den Vorteilen dieses Testverfahrens (Asai et al. 2002, Jervøe-Storm et al. 2005, Boutaga et al. 2006, Siqueira et al. 2007). Außerdem können im Gegensatz zum mikrobiologischen Kulturverfahren mehr Bakterien nachgewiesen werden (Siqueira et al. 2007). Für die Detektion der Parodontalpathogene werden, im Vergleich zu anderen, keine Lebendkeime benötigt. Somit können auch diejenigen Anaerobier nachgewiesen werden, deren Auftreten für die chronische Parodontitis charakteristisch ist und die einen Großteil der subgingivalen Mikroflora ausmachen (Riggio et al. 1996). Diese Tatsache bringt eine geringere Anfälligkeit der Proben hinsichtlich Lagerung und Transport mit sich (Sakamoto et al. 2001, Sixou 2003).

Auch die real-time PCR, die für die Analyse von *Filifactor alocis* eingesetzt wurde, stellt ein sensitives und spezifisches Verfahren zum Nachweis parodontopathogener Mikroorganismen dar (Lau et al. 2004). Der Zeitaufwand dieser Methode ist gering und auf die Bedürfnisse wissenschaftlicher Studien ausgerichtet (Sixou 2003). Die Quantifizierung von Bakterienprodukten beruht auf dem Einsatz fluoreszenzmarkierter Primer und Sonden sowie kontinuierlicher Messung der Fluoreszenz zum exponentiellen Wachstum der DNA-Amplifikate. In mehreren Studien erwies sich das Verfahren für die Detektion klinisch relevanter Spezies als geeignet (Corless et al. 2001, McAvin et al. 2001, Asai et al. 2002) und war der bakteriellen Kultivierung überlegen (Suzuki et al. 2005).

5.1.4 Scaling und Root Planing

In der Literatur findet man viele Studien, die über die gute klinische Ansprechbarkeit von Hand-, Ultraschall- sowie Schallinstrumenten im Rahmen des Scaling und Root Planing berichten (Cobb 2002, Obeid et al. 2004, Khosravi et al. 2004). Gleichmaßen viele Untersuchungen befassten sich damit, die Effektivität der Handinstrumente gegenüber den Ultraschallsystemen zu vergleichen (Klinger et al. 2000, Serino et al. 2001, Sculean et al. 2004). Es stellte sich heraus, dass die Handinstrumente die Taschentiefe signifikant reduzierten und auch das Bluten auf Sondieren signifikant abnahm (Cobb 2002, Sculean et al. 2004). Demgegenüber erzielten die Ultraschall- und Schallinstrumente im schwer zugänglichen Furkationsbereich bessere Ergebnisse (Kocher et al. 2000). Beiden Verfahren konnte ein vergleichbarer klinischer Attachmentgewinn nach der Glattflächenbearbeitung von Molaren sowie der Behandlung einwurzeliger Zähne nachgewiesen werden, sodass die manuelle Instrumentierung der maschinellen Bearbeitung gleichgesetzt werden kann (Sculean et al. 2004, Petersilka & Flemmig 2005). Die vorliegende Studie kann die Effektivität des SRP in der Parodontaltherapie (Cobb 2002) nur bestätigen. Die Anwendung von Hand- und Ultraschallinstrumenten führte auch in den hiesigen Probandengruppen zur signifikanten Verbesserung klinischer Variablen. Schon 1984 wiesen Badersten et al. dem nichtchirurgischen Verfahren eine Verbesserung der klinischen Ausgangswerte innerhalb von drei bis sechs Monaten nach. Zusätzlich registrierten sie, dass das positive Therapieergebnis lange nach diesem Zeitraum aufrechterhalten werden

konnte (Badersten et al. 1984). Kaldahl et al. (1993) stellten bei der Untersuchung der Wirkung von Scaling und Root Planing auf klinische und mikrobiologische Variablen gute Ergebnisse fest.

Im Hinblick auf die Verringerung bestimmter Bakterienspezies ließen sich, wie in vorliegender Studie, Reduktionen von *P. gingivalis*, *T. forsythia* und *T. denticola* nach sechs Monaten infolge Scaling und Root Planing nachweisen (Cugini et al. 2000). Auf einige Erreger hatte die Therapie nur einen minimalen Effekt, während andere in ihrer Häufigkeit eher zunahmten (Cugini et al. 2000). Die vollständige Eliminierung pathogener Spezies war, trotz erfolgreicher Parodontaltherapie, auch in vorliegender Untersuchung nicht zu erwarten, da der invasive Charakter einiger Bakterien ein Persistieren gewährleistet und eine Taschenrekontamination nach mechanischer Reinigung möglich macht (Arakawa et al. 2000, Rudney et al. 2001).

5.2 Diskussion der Ergebnisse

Die Erhebung der klinischen Daten, die mikrobiologische Probenentnahme sowie die Durchführung bereits beschriebener Therapie erfolgte fortwährend durch die gleichen Behandler. Da die Messergebnisse von verschiedenen Untersuchern abweichen können (Armitage 2003), wurden diese vor Studienbeginn kalibriert, um Fehler bei der Datenerhebung zu vermeiden.

5.2.1 Änderungen der klinischen Variablen

Sondierungstiefe

Um die Fehlerquote bei der Erhebung der Sondierungstiefe zu verringern, wurde von den Behandlern einheitlich das Parodontometer UNC 15 (Hu Friedy, Rotterdam, Niederlande) verwendet. Auch die Vorgehensweise mit einem schonungsvollen Druck von 0,25 N war präzise vorgegeben.

Die Ergebnisse für die Variable Sondierungstiefe sprechen für einen generell klinischen Erfolg der Parodontaltherapie. Wie die Gruppen zeigen, kann bestätigt werden, dass die Verbesserung der initial sondierten Tiefe in den ersten drei Monaten nach Scaling und Root Planing am größten war (Cobb 2002). Eine weitere Reduktion konnte nach sechs Monaten nachgewiesen werden (Cugini et al. 2000, Knöfler et al. 2007), jedoch fiel diese im Rahmen der Erhaltungstherapie geringer

aus. Die Werte beider Gruppen stehen dementsprechend mit den Ergebnissen von Cobb und denen anderer Studien im Einklang. Eine andere Arbeit, die die Wirkweise von Hand- und Ultraschallinstrumenten untersucht hat, konnte für Patienten mit moderater Parodontitis eine Verkleinerung der Taschentiefe um 1 mm nachweisen, dabei gab es keinen Unterschied zwischen den mit verschiedenen Geräten therapierten Quadranten (Christgau et al. 2007). Die High Response Gruppe kam durch einheitlich durchgeführtes SRP auf selbiges Ergebnis. Zusätzliche Analogie der hier vorgestellten Durchführung besteht zu dem Resultat einer Studie aus dem Jahre 2002. Hierbei beschäftigten sich die Autoren mit dem Effekt des nicht-chirurgischen Verfahrens auf die Variable Sondierungstiefe und fanden heraus, dass initial mittlere Taschentiefen um 1 mm reduziert werden konnten, während bei kleinen Messgrößen eine signifikante Abnahme ausblieb (Hung & Douglass 2002). Auch Knöfler et al. (2008) konnten durch das SRP eine durchschnittliche Reduktion der Taschentiefe von 1 mm nach 6 Monaten erzielen. In der Low Response Gruppe war dieser Wert im Vergleich zur High Response Gruppe über den gesamten Untersuchungszeitraum nicht zu erreichen. Es bleibt festzustellen, dass die Verbesserung der Variable Sondierungstiefe in beiden Probandengruppen signifikant, jedoch in der High Response Gruppe größer war. Zwischen den Gruppen ließen sich signifikante Unterschiede ($p < 0,001$) zu den Zeitpunkten t_1 und t_2 ermitteln.

Klinischer Attachmentlevel

Die Erhebung des klinischen Attachmentlevels erfolgte gemäß den Vorgaben des Studienprotokolls. Unter Zuhilfenahme eines Parodontometers UNC 15 (Hu Friedy, Rotterdam, Niederlande) und der Vorgehensweise mit einem schonungsvollen Druck von 0,25 N wurde möglichen Messfehlern bei der Datenerhebung vorgebeugt.

Die angewandte Therapie hat für die Variable AL klinisch zum Erfolg geführt. Die von Cobb (2002) nachgewiesene Verbesserung des Attachmentlevels von im Durchschnitt 0,55 mm wurde von beiden Probandengruppen übertroffen. Vergangene Untersuchungen konnten belegen, dass der Attachmentgewinn und die initiale Sondierungstiefe in unmittelbaren Zusammenhang stehen (Cobb 1996, Drisko 2001). Dementsprechend brachte das Scaling und Root Planing bei Zahnfleischtaschen von 3 mm bis 6 mm einen Attachmentgewinn von 0,5 mm mit sich, während Sondierungstiefen im Bereich > 6 mm eine Zunahme von 1,19 mm erwarten ließen

(Cobb 1996, Drisko 2001). Wiederum konnten im Falle der mittleren Ausgangswerte die vorliegenden Ergebnisse der Vergleichsgruppen die der Literaturangaben übertreffen. Knöfler et al. gelang in einer Studie aus dem Jahre 2007 eine Verbesserung des AL um 1,10 mm bei anfänglich moderater sondierter Tiefe. Im Vergleich dazu erzielte auch hier die High Response Gruppe mit ihrem Zugewinn von 1,32 mm ein positiveres Therapieergebnis. In der Low Response Gruppe war das Ergebnis gegenüber Knöfler et al. (2007) weniger erfolgreich.

Es wurde festgestellt, dass die Durchführung eines nichtchirurgischen Verfahrens bei initialen Zahnfleischtaschen von 1 mm bis 3 mm einen Attachmentverlust von 0,34 mm provoziert. Demzufolge sollte die Instrumentierung kleiner Taschentiefen laut Drisko (2001) vermieden werden. Diese Erkenntnis wurde 2004 in einer wissenschaftlichen Arbeit von Claffey et al. nochmals bestätigt.

Im Vergleich zur Literatur fielen die Werte in den hiesigen Gruppen größtenteils besser aus. Signifikante Unterschiede ergaben sich innerhalb der Gruppen, aber auch zwischen den Gruppen zu den Untersuchungszeitpunkten t_1 ($p < 0,001$) und t_2 ($p < 0,001$).

Bluten auf Sondieren

Bei der Bestimmung des BOP wurde mit dem Parodontometer UNC 15 (Hu Friedy, Rotterdam, Niederlande) schonungsvoll vorgegangen (0,25 N Druck). Eine zu forsche Instrumentierung galt es zu vermeiden, da nachweislich eine Korrelation zwischen dem Sondendruck und dem Blutungsverhalten existiert (Lang et al. 1991).

Die nach drei und sechs Monaten erhobenen Befundwerte der Probandengruppen decken sich mit den Angaben der Literatur, wobei die Auswirkungen des nichtchirurgischen Verfahrens auf das Blutungsverhalten stark variieren können. Es zeigte sich, dass die Spanne der Ergebnisse, in Abhängigkeit vom Ausgangsbefund, recht groß ist und von Reduktionen um 10 - 80 % nach drei Monaten und 37 - 87 % nach zwölf Monaten berichtet wird (Pedrazzoli et al. 1991, Drisko et al. 1995, Haffajee et al. 1997, Knöfler et al. 2007). Wie bei der Sondierungstiefe und dem klinischen Attachmentlevel fiel die Verbesserung der Variable BOP im Laufe der Erhaltungstherapie geringer aus. Nur 5,5 % sind laut Tunkel et al. (2002) bei erneuter Instrumentierung zu erreichen. Dieser Wert konnte von der High Response Gruppe und der Low Response Gruppe im Rahmen der UPT übertroffen werden.

Das angewandte Therapieverfahren konnte in beiden Probandengruppen den BOP über den gesamten Untersuchungszeitraum signifikant reduzieren ($p < 0,001$), sodass von einem positiven Behandlungsergebnis für diese Variable ausgegangen werden kann. Im Gruppenvergleich ließ sich kein signifikanter Unterschied feststellen.

Die Abwesenheit des BOP sollte als ein Kriterium für Beständigkeit angesehen werden, anstatt die Anwesenheit einer Sondierungsblutung als Indikator für zukünftige Attachmentverluste zu betrachten (Lang et al. 1990). Durch die Verbesserung des BOP kann eine gewisse parodontale Stabilität prognostiziert werden (Joss et al. 1994).

Approximalraum-Plaueindex

Der Approximalraum-Plaueindex wurde in beiden Probandengruppen im Laufe der Studie signifikant verbessert. In der Literatur konnte eine Studie belegen, dass eine fortwährend gute Mundhygiene bei Sondierungstiefen im Bereich ≤ 4 mm, über einen Zeitraum von drei Monaten, eine positive Veränderung des subgingivalen Biofilms herbeiführen und Entzündungen deutlich reduzieren kann (Lowenguth & Greenstein 1995). Dies deckt sich mit den Ergebnissen unserer Probandengruppen, bei denen die Variablen API und BOP gleichermaßen signifikant verbessert werden konnten. Auch Axelsson et al. (2004) stellten fest, dass die regelmäßige supragingivale Plaueentfernung das Fortschreiten der Parodontitis verzögern und Neuerkrankungen verhindern kann. Neben den schon aufgeführten Aspekten wird der Plauekontrolle eine wichtige Rolle bei der Verhinderung der Taschenrekontamination zugesprochen. Beim Ausbleiben professioneller Belagsbeseitigung können binnen zwei Monaten bereits ursprüngliche Keimkonzentrationen wieder gemessen werden (Sbordone et al. 1990). Um dies zu vermeiden, wurde in der vorliegenden Studie im Rahmen der UPT die Mundhygiene der Probanden kontrolliert und die PZR standardisiert wiederholt.

Beim Vergleich der Gruppen ließ sich zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied für die klinische Variable API ausmachen.

5.2.2 Änderungen der Mikroflora

Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Das Ergebnis der mikrobiologischen Analyse von *A. actinomycetemcomitans* macht deutlich, dass das Bakterium in vorliegender Studie nur schwer zu eliminieren war. Dies entspricht den Angaben der Literatur (Renvert et al. 1990, Mombelli et al. 1994, Takamatsu et al. 1999, Greenstein 2000, Ehmke et al. 2005, Christgau et al. 2007, Derdilopoulou et al. 2007). In vergangenen Studien wurde bereits nachgewiesen, dass das Vorkommen von *A. actinomycetemcomitans* allein durch Scaling und Root Planing nicht beeinflusst werden konnte und ein Rückgang der Spezies somit ausblieb (Christgau et al. 2007, Derdilopoulou et al. 2007). Eine 1990 veröffentlichte Arbeit von Renvert et al. fand selbiges heraus. Auch Greenstein (2000) und Takamatsu et al. (1999) stellten eine eher geringe Wirkung des SRP auf den Markerkeim fest. Mombelli et al. (1994) berichten ebenfalls von nur minimalen Effekten der mechanischen Reinigung auf *A. actinomycetemcomitans*, die sie bei Probanden mit moderater bis schwerer chronischer Parodontitis beobachteten. Diese charakteristische Persistenz der Spezies ist auf die Fähigkeit zur Invasion in gingivales Gewebe zurückzuführen. Im Folgenden kann es zu einer Rekontamination der parodontalen Tasche kommen, obwohl das Bakterium zuvor durch nicht-chirurgisches Therapieverfahren eliminiert wurde (Ehmke et al. 2005).

Die Spezies war zwar zum Zeitpunkt Baseline in der High Response Gruppe mehr präsent ($p = 0,047$), dafür war ein Markerkeimanstieg in der Low Response Gruppe zum Untersuchungszeitpunkt t_2 nachweisbar, welcher sich mit den Resultaten anderer Studien deckt (Haffajee et al. 1997, Cugini et al. 2000). Die Gründe hierfür können die bereits erwähnte Reinfektion des Taschenmilieus oder aber eine exogene Kontamination während des Studienzeitraumes sein (Ehmke et al. 2005). Ebenso wäre eine Ausbreitung von anfänglich noch nicht nachweisbarer, da unterhalb der Nachweisgrenze gelegener, Bakterienmenge denkbar (Shiloah & Patters 1994).

Porphyromonas gingivalis

Es ist in der Studie gelungen, den Markerkeim *P. gingivalis* durch angewandtes Scaling und Root Planing in der High Response Gruppe zu den Untersuchungszeitpunkten t_1 ($p = 0,003$) und t_2 ($p = 0,002$) signifikant zu reduzieren. Dieses positive Therapieergebnis, das sich für fast alle Probanden dieser Gruppe einstellte, stimmt mit den Angaben vergangener Untersuchungen überein. Diese berichteten davon,

dass das nichtchirurgische Verfahren die Keimzahlen von *P. gingivalis* signifikant beeinflussen und reduzieren kann (Haffajee et al. 1997, Colombo et al. 2005, Ioannou et al. 2009). Der Effekt des SRP auf den parodontopathogenen Erreger war so groß, dass auch nach sechs Monaten die Keimkonzentration unterhalb der Ausgangswerte aufrechterhalten werden konnte (Renvert et al. 1990). Cugini et al. (2000) wiesen der Spezies einen Rückgang der Bakterienmenge innerhalb von sechs Monaten nach, während sie über einen Zeitraum von einem Jahr die Auswirkungen nichtchirurgischer Therapie auf mikrobiologische Veränderungen beobachteten. Zusätzlich konnten sie zeigen, dass die Prävalenz von *P. gingivalis* auch nach neun sowie zwölf Monaten niedrig blieb. Diese parodontale Stabilität, wie sie von den Autoren (Renvert et al. 1990, Cugini et al. 2000) beschrieben wird, war auch in der High Response Gruppe zu beobachten. Eine weitere Langzeitstudie wies einen signifikanten Rückgang des Erregers in Abwesenheit unterstützender Therapiemaßnahmen nach, wie beispielsweise eine adjuvante Antibiotikagabe (Shiloah & Patters 1996).

Im Hinblick auf die klinischen Variablen lässt sich eine Abhängigkeit zwischen der Reduktion der Bakterienspezies und einer Verringerung an infizierten Taschen ausfindig machen. So erzielten zum Beispiel Takamatsu et al. (1999) eine signifikante Abnahme *P. gingivalis* in Kombination mit einer Verbesserung klinischer Variablen (PD, AL, BOP) unmittelbar vier Wochen nach Scaling und Root Planing. Diese Korrelation war auch in der High Response Gruppe nachzuweisen.

In der Low Response Gruppe war durch das SRP kein signifikanter Rückgang der Spezies im Laufe der Studie zu erreichen. Dies war auch in einer Untersuchung von Darby et al. (2001) der Fall. Als mögliche Erklärungen hierfür wären die Fähigkeit zur Persistenz sowie die Invasionsfähigkeit ins gingivale Gewebe zu nennen. Den Nachweis für diese Virulenz konnte eine frühere Studie bereits liefern, indem sechs Monate nach Parodontaltherapie Bakterienstämme des gleichen, vor Therapie entdeckten, Genotyps nachgewiesen werden konnten, obwohl unmittelbar nach SRP keine Bakterien detektierbar waren (Troil-Lindén et al. 1996). Es bleibt zu berücksichtigen, dass verschiedene Geno- und Serotypen des Markerkeims bekannt sind, die sich in der Ausprägung der Virulenzfaktoren unterscheiden (Hajishengallis 2009). Demzufolge erscheint es als sinnvoll, die mikrobiologischen Untersuchungen als Analyse einzelner *Gingivalis*-Stämme durchzuführen, anstatt alle Varianzen der Spezies zusammenzufassen. Ein weiterer Grund könnte die Interaktion mit anderen

gram-negativen und fakultativ anaeroben Mikroorganismen sein (Polak et al. 2009). Im subgingivalen Biofilm ist *P. gingivalis* vor allem im Beisein von *T. forsythia* und *T. denticola* anzutreffen (Mineoka et al. 2008). Eine Studie von Fujise et al. (2002) entdeckte hohe Anteile von *P. gingivalis* in Kombination mit *T. forsythia* in Zahnfleischtaschen mit moderater Sondierungstiefe nach SRP. Diese bakterielle Interaktion spiegelt sich auch in den Ergebnissen der Low Response Gruppe wider. In Abhängigkeit von der Prävalenz von *P. gingivalis* konnten *T. forsythia* und *T. denticola* nach Scaling und Root Planing in der Probandengruppe LR ebenfalls nicht signifikant reduziert werden. Zusätzliche Antwort müsste auch der Infektionsweg des Leitkeims liefern. Das Bakterium wird stets durch einen bereits infizierten Organismus mittels horizontaler und vertikaler Transmission übertragen, dabei dient der Speichel als Transportmedium (Greenstein & Lamster 1997, Van Winkelhoff & Boutaga 2005). Für zukünftige Studien könnte eine Begutachtung der Ehepartner sowie Angehöriger und eine begleitende Therapie derer von Nutzen sein.

Schlussfolgernd bleibt festzustellen, dass sich die Spezies *P. gingivalis* über den gesamten Untersuchungszeitraum in der High Response Gruppe durch das angewandte Scaling und Root Planing am meisten reduzieren ließ und den größten klinischen Erfolg für diese Probandengruppe und die Studie mit sich brachte. Ein signifikanter Unterschied ergab sich daraufhin zwischen den Gruppen zu den Zeitpunkten t_1 ($p = 0,010$) und t_2 ($p = 0,027$). Dem Mikroorganismus wird die Rolle als wichtigster prognostischer Marker dieser Studie zuteil.

Tannerella forsythia

Das angewandte Therapieverfahren konnte in der High Response Gruppe die Spezies *T. forsythia* bis zum Untersuchungszeitpunkt t_2 ($p = 0,034$) signifikant reduzieren. Dieses positive Therapieergebnis steht zum Teil mit den Resultaten vergangener Untersuchungen im Einklang, fällt größtenteils jedoch besser aus. Viele Studien konnten nämlich nur eine eher kurzfristige Bakterienreduktion beobachten, wobei anschließend die Keimzahlen rasch wieder anstiegen und sich den Ausgangswerten vor Therapiebeginn annäherten (Haffajee et al. 1997, Drisko 2001). Haffajee et al. (1997) beschrieben diese initiale Keimzahlsenkung unmittelbar nach Therapie als eine Art Effekt, der nur wenige Wochen anhält und durch eine nahezu vollständige Rekolonisation innerhalb von drei Monaten nicht aufrechterhalten werden kann. Demgegenüber war es in einer anderen Untersuchung durch Scaling

und Root Planing gelungen, die Prävalenz *T. forsythias* deutlich zu senken, auch wenn die vollständige Entfernung ebenfalls nicht erreicht werden konnte (Wadhvani et al. 2013). Die Spezies ist laut Haffajee et al. (1997) einfacher aus Taschen mit moderater Sondierungstiefe zu eliminieren als bei besonders tiefen Zahnfleischtaschen.

In Anbetracht der erhobenen Werte der High Response Gruppe kann von einem bakteriellen Zusammenhang *T. forsythias* mit *P. gingivalis* ausgegangen werden (Mineoka et al. 2008). Das Vorkommen beider Mikroorganismen konnte bis sechs Monate nach SRP verringert werden und ging mit einem statistisch signifikanten Ergebnis für diese Probandengruppe einher.

Dass sich zu keiner Zeit in der Low Response Gruppe eine Bakterienreduktion einstellte, deckt sich mit der Studie von Ioannou et al. aus dem Jahr 2009 und kann in einen Zusammenhang mit der Invasionsfähigkeit des Mikroorganismus gebracht werden. Seine zahlreichen Virulenzfaktoren ermöglichen nicht nur die Penetration in die Wirtszellen, sondern bedingen auch die Parodontopathogenität und bringen eine erhöhte Rezidivgefahr mit sich (Arakawa et al. 2000, Rudney et al. 2001). Die Überlebensfähigkeit erschwert die Elimination des Erregers und stellt eine mögliche Erklärung für das Therapieergebnis der Low Response Gruppe dar.

Trotz unterschiedlicher Auswirkungen nichtchirurgischen Verfahrens auf *Tannerella forsythia* ergaben sich zwischen den Probandengruppen zu keiner Zeit signifikante Unterschiede.

Treponema denticola

Die Auswertung der mikrobiologischen Analyse von *T. denticola* macht deutlich, dass sich vor allem für die Probanden der High Response Gruppe ein durchweg positives Therapieergebnis einstellte. Wie auch in vergangenen Studien nachgewiesen werden konnte, stellte sich eine Abnahme der Markerkeimzahl unmittelbar nach sowie drei Monate infolge Scaling und Root Planing ein (Haffajee et al. 1997, Cugini et al. 2000, Colombo et al. 2005). Während selbige und andere Autoren von einem Anstieg der Bakterienmenge direkt nach diesen drei Monaten berichten (Haffajee et al. 1997, Cugini et al. 2000, Colombo et al. 2005, Derdilopoulou et al. 2007, Del Peloso Ribeiro et al. 2008), konnten die Werte hiesiger Probandengruppe HR auch nach sechs Monaten, unterhalb der zu Baseline erhobenen Ausgangsdaten, aufrechterhalten werden. Damit ist das Therapieergebnis besser als in der Literatur angegeben und

ergab zum Zeitpunkt t_2 ($p = 0,034$) eine statistische Signifikanz. Die synergistische Beziehung von *T. denticola* mit *P. gingivalis* (Mineoka et al. 2008) erklärt die zu jedem Zeitpunkt ähnlichen Verringerungen bzw. Konzentrationen beider Spezies innerhalb der High Response Gruppe.

In der Low Response Gruppe war zwar ein leichter Rückgang der Bakterienmenge zu verzeichnen, aber eine signifikante Reduktion der Spezies blieb aus. Dies entspricht dem Resultat einer Studie von Ioannou et al. (2009) und lässt sich zurückführen auf den invasiven Charakter des Bakteriums und der damit verbundenen Fähigkeit ins parodontale Gewebe eindringen zu können (Li et al. 1999, Sela 2001). Zusätzliche Antwort müsste auch hier die Interaktion von *T. denticola* mit anderen Parodontalpathogenen liefern (Mineoka et al. 2008). Der nur geringe Effekt des Scaling und Root Planing auf die Spezies *T. denticola* korreliert mit den Therapieergebnissen von *P. gingivalis* und *T. forsythia* innerhalb der Probandengruppe Low Response.

Ein signifikanter Unterschied war zwischen den Gruppen im Laufe der Untersuchungen nicht auffindig zu machen.

Prevotella intermedia

Im Falle von *Prevotella intermedia* kann von einer wirksamen Parodontaltherapie in beiden Probandengruppen während des gesamten Untersuchungszeitraumes ausgegangen werden. In der High Response Gruppe war diese Reduktion der Bakterienmenge zum Zeitpunkt t_1 statistisch signifikant ($p = 0,046$). Dieses positive Therapieergebnis stimmt mit den Erkenntnissen älterer Untersuchungen überein (Polson et al. 1984, DOUNGUDOMDACHA et al. 2001). Sie alle bezeugen gleichermaßen die signifikante Reduktion von *Prevotella intermedia* drei Monate nach systematischer mechanischer Reinigung der Wurzeloberfläche (Polson et al. 1984, DOUNGUDOMDACHA et al. 2001, Colombo et al. 2005). Obwohl das Bakterium mit Hilfe seiner Virulenzfaktoren, wie zum Beispiel den Proteasen, in die Zellen des gingivalen Gewebes eindringen kann (Yanagisawa et al. 2006), ist es hier in beiden Gruppen gelungen, das Vorkommen des Erregers durch Scaling und Root Planing im subgingivalen Milieu zu verringern. Außerdem blieben die zum Untersuchungszeitpunkt t_2 erhobenen Bakterienmengen unterhalb der Ausgangswerte. Eine statistische Signifikanz ließ sich in der Low Response Gruppe dennoch nicht ermitteln.

Demgegenüber existiert eine gegenteilige Studie, bei der keine auch nur kurzzeitige Abnahme der Bakterienmenge eintrat (Shiloah & Patters 1994). Als Hauptursache wäre in diesem Falle die Behandlungsdurchführung zu benennen. Im Gegensatz zu der von uns gewählten full mouth Methode wurde von den Untersuchern das nicht-chirurgische Verfahren in mehrere Sitzungen aufgeteilt und ausgeführt. Hierbei steigt das Risiko einer erneuten Kontamination, verursacht durch die noch nicht therapierten Zahnfleischtaschen (Shiloah & Patters 1994).

In der High Response Gruppe deuten die erzielten mikrobiologischen Ergebnisse auf eine bestehende Korrelation von *P. intermedia* mit *P. gingivalis* hin. Signifikante Gruppenunterschiede konnten während des Untersuchungszeitraumes nicht ermittelt werden.

Filifactor alocis

Der Effekt des Scaling und Root Planing auf die Spezies *Filifactor alocis* ist im Vergleich zu den anderen parodontopathogenen Mikroorganismen weniger untersucht. Folglich existieren kaum Literaturangaben, die sich mit den hiesigen Ergebnissen der Probandengruppen vergleichen lassen. In der vorliegenden Studie ist es gelungen, die Bakterienmenge vor allem in der High Response Gruppe zu den Zeitpunkten t_1 ($p = 0,025$) und t_2 ($p = 0,014$) infolge SRP signifikant zu reduzieren. Ebenso war ein Rückgang der Spezies in der Low Response Gruppe zu verzeichnen, der jedoch nicht signifikant war. *F. alocis* hat die besondere Fähigkeit, gegenüber oxidativem Stress resistent zu sein und mit anderen parodontalen Pathogenen zu kolonisieren und zu überleben (Aruni et al. 2011). Die Anwesenheit von *P. gingivalis* scheint das Adhäsionsvermögen von *F. alocis* an Epithelzellen zu verstärken. Demgegenüber erhöht das Vorkommen von *Filifactor alocis* die Invasionsfähigkeit von *P. gingivalis*, *F. nucleatum* und *P. intermedia* (Saito et al. 2009). In der High Response Gruppe war hauptsächlich die bakterielle Interaktion von *F. alocis* mit *P. gingivalis* nachzuweisen. Dabei zeigten beide Bakterien stets ähnliche Keimkonzentrationen und durch das Scaling und Root Planing konnten sie zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten signifikant reduziert werden. Mit dem Ergebnis einer Studie von Spooner et al. (2016) stimmt dies nicht überein. Hierbei gelang den Untersuchern durch nichtchirurgisches Therapieverfahren lediglich die Prävalenz von *P. gingivalis* signifikant zu verringern, während jeglicher Effekt auf *F. alocis* ausblieb.

Weiterhin wird dieser Kokultur eine erhöhte Biofilmbildung zugesprochen (Aruni et al. 2011). Außerdem konnten für das Bakterium *F. alocis* Virulenzfaktoren ausfindig gemacht werden, die ihm ein Persistieren im subgingivalen Milieu ermöglichen (Aruni et al. 2011) und die Eliminierung zunehmend erschweren.

Vor diesem Hintergrund bleibt festzustellen, dass das in der vorliegenden Studie angewandte Scaling und Root Planing zu einer erfolgreichen Reduktion der Spezies *F. alocis* geführt hat und das Therapieergebnis positiv gewertet werden kann. Zwischen den Gruppen waren zu keiner Zeit signifikante Unterschiede zu bestimmen.

Parvimonas micra, *Fusobacterium nucleatum/ necrophilus*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga sputigena*

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Analysen von *Parvimonas micra* und *Campylobacter rectus* ließen einen Rückgang der Bakterienmengen infolge Scaling und Root Planing für die High Response Gruppe feststellen. Bereits in einer älteren Studie konnte der Nachweis erbracht werden, dass eine effektive Parodontaltherapie eine Reduktion der Keimzahlen beider Spezies mit sich bringt (Haffajee et al. 1988), nur waren im Vergleich dazu die in unserem Fall erhobenen Werte zu keinem Zeitpunkt signifikant.

Fusobacterium nucleatum/ necrophilus und *Eubacterium nodatum* waren durch das angewandte SRP nicht zu verringern. Die Persistenz von *F. nucleatum/ necrophilus* kann auf verschiedene Ursachen zurückgeführt werden. Zum einen kann sich der Mikroorganismus den wechselnden pH-Bedingungen des subgingivalen Milieus anpassen (Zilm et al. 2007) und zum anderen nimmt er eine wichtige Schlüsselrolle als Brückenbildner zwischen Früh- und Spätbesiedlern ein (Periasamy & Kolenbrander 2009). Außerdem ist der Erreger am Prozess der Biofilmbildung und an der Bakterienadhäsion beteiligt (Signat et al. 2011). Zusätzlich besitzt er die Fähigkeit zur Co-Aggregation mit anderen Bakterienstämmen (Signat et al. 2011), die ihm zum Verbleib verhelfen.

Eikenella corrodens konnte lediglich in der High Response Gruppe minimal reduziert werden, während in der Low Response Gruppe die Bakterienmenge eher anstieg. Dies könnte mit der von Fujise et al. (2004) beschriebenen synergistischen Beziehung zu *A. actinomycetemcomitans* zusammenhängen, die sich laut erhobener Werte bestätigen lässt.

Für *Capnocytophaga sputigena* war nur in der Low Response Gruppe eine geringfügige und nicht signifikante Abnahme der Bakterienmenge nachzuweisen. Dies entspricht in etwa dem Ergebnis einer Studie aus dem Jahre 2004. Hierbei beobachteten die Autoren nur unverändert auftretende Bakterienmengen nach Scaling und Root Planing, während eine signifikante Reduktion von *C. sputigena* ausblieb (Salari & Kadkhoda 2004).

Bei keinem der sechs genannten Mikroorganismen ließen sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen während des gesamten Studienzeitraumes ermitteln.

Die vorliegende Untersuchung macht deutlich, wie relevant die ökologische Beziehung potentieller Pathogene für die komplexe Ätiologie und Progression der Parodontitis ist und unterstreicht die herausragende Rolle von *Porphyromonas gingivalis*. Die Spezies ließ sich über den gesamten Untersuchungszeitraum in der High Response Gruppe durch das angewandte Scaling und Root Planing am meisten reduzieren und brachte einen signifikanten Unterschied zwischen den Probandengruppen zu den Zeitpunkten t_1 und t_2 mit sich. In der Literatur wird *Porphyromonas gingivalis* als „keystone“ Pathogen bezeichnet (Hajishengallis & Lamont 2012), welches auch in geringer Menge die Zusammensetzung symbiotischer oraler Mikrobiota beeinflussen und zum „microbial shift“ bzw. zur Dysbiose führen kann (Hajishengallis et al. 2011). Mit der Hilfe von Fimbrien kann sich der Mikroorganismus an Epithelzellen, Gerinnungsfaktoren sowie Speichelmoleküle haften (Amano et al. 2004) und mit anderen gram-negativen und gram-positiven Bakterien koaggregieren (Mineoka et al. 2008). Zusätzlich spielen die Fimbrien eine wichtige Rolle bei der Biofilmentwicklung (Kuboniwa et al. 2009). Nach der Adhäsion kann *P. gingivalis* ins Gewebe invadieren, dort persistieren und sich vor immunologischen Abwehrmechanismen schützen (Yilmaz et al. 2003). Durch die Freisetzung bakterieller Proteinase, wie die Gingipain R (RgpA und RgpB) und K (Kgp), ist die Spezies befähigt, den Wirtsorganismus proteolytisch anzugreifen (Potempa et al. 1997) und die Immunantwort zu beeinflussen (Fitzpatrick et al. 2009). Außerdem greift das Bakterium in das Komplementsystem ein, um das eigene Überleben zu sichern und die Lebensbedingungen für andere komplement-sensitive Bakterien zu verbessern (Hussain et al. 2015). *P. gingivalis* kann toxische Substanzen und proteolytische Enzyme in Vesikeln synthetisieren, die zur lokalen Gewebszerstörung führen

(Takahashi et al. 2000). Eine weitere Untersuchung hat ergeben, dass die Spezies den Wundheilungsprozess verlangsamt (Furuta et al. 2009).

In Anbetracht der Virulenz und Persistenz des Leitpathogens *P. gingivalis* wird deutlich, wie erfolgreich das angewandte Therapieverfahren für die Probanden der High Response Gruppe war. Der Spezies wird die Rolle als wichtigster prognostischer Marker dieser Untersuchung zuteil. Für zukünftige Studien könnte dies bedeuten, dass ein positiver Nachweis auf das Vorkommen von *P. gingivalis* vor SRP und drei Monate danach eine Prognose für das Therapieergebnis liefert. Dabei ist es notwendig, dass das Vorhandensein von Leitpathogenen aufgedeckt wird. Die Studie unterstützt die Durchführung mikrobiologischer Analysen, um Mikroorganismen als potentiell prognostische Marker für den Behandlungsausgang nachweisen zu können.

6 Zusammenfassung der Arbeit

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med. dent.

„Prognostische mikrobiologische Marker bei Patienten mit moderater bis schwerer chronischer Parodontitis“

eingereicht von: Karolin Vollroth

geboren am: 25.09.1985

angefertigt in: Funktionsbereich Parodontologie der
Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
Universität Leipzig

betreut von: Prof. Dr. Dr. h. c. Holger Jentsch

September 2018

Das Scaling und Root Planing gilt noch immer als der Goldstandard in der Parodontaltherapie (Sanz et al. 2012). Es dient der kausalen Infektionsbekämpfung und zielt auf die Verbesserung der klinischen Situation. Neben der Etablierung einer nicht parodontopathogenen Mikroflora soll die parodontale Entzündungsfreiheit wiederhergestellt werden (Petersilka et al. 2002).

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, das Behandlungsergebnis eines bei allen Probanden einheitlich durchgeführten Scaling und Root Planing anhand von klinischen Variablen und zwölf Bakterien des subgingivalen Biofilms zu untersuchen und denjenigen prognostischen Marker herauszufiltern, der eine Vorhersage auf das Therapieergebnis nach SRP ermöglicht.

Insgesamt wurden 46 Probanden im Alter von 33 - 77 Jahren mit moderater bis schwerer chronischer Parodontitis in die Studie eingeschlossen. Zum Zeitpunkt Baseline (t_0) wurden die klinischen Variablen PD, AL, BOP sowie API erhoben und die Stellen für die Probenentnahme ermittelt. Aus der jeweils tiefsten Zahnfleischtasche eines jeden Quadranten wurden die mikrobiologischen Proben entnommen und anschließend gepoolt auf das Vorkommen zwölf parodontopathogener Bakterien untersucht.

Im folgenden Zeitraum erhielten alle Probanden die gleiche Standardtherapie. Nach zwei Prophylaxe- und Instruktionssitzungen wurde der subgingivale Biofilm durch systematisches Scaling und Root Planing unter Verwendung von Hand- und Ultraschallinstrumenten entfernt. Nach drei (t_1) und sechs (t_2) Monaten wurden klinische Variablen erneut erfasst und mikrobiologische Proben wiederholt gewonnen.

Die 60%ige Reduktion der Anzahl aller Zahnfleischtaschen mit PD > 4 mm sechs Monate nach SRP diente als Abgrenzung der Probanden mit einem stark positiven Behandlungsergebnis (High Response) gegenüber denjenigen mit nur mäßigen Behandlungsergebnis (Low Response). Die statistische Auswertung der klinischen Variablen erfolgte zwischen den Gruppen mit dem Mann-Whitney-U-Test und innerhalb der Gruppen mit dem Wilcoxon Test. Im Falle der Mikrobiologie kam zwischen den Gruppen der Fisher-Exakt-Test zur Anwendung. Innerhalb der Gruppen ließen sich die Werte zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten mit dem McNemar-Test ermitteln.

Zum Untersuchungszeitpunkt t_2 zeigten 20 Probanden ein stark positives Behandlungsergebnis (High Response), während sich bei 26 Patienten ein nur mäßiger Behandlungsausgang feststellen ließ (Low Response).

Das angewandte Scaling und Root Planing hat im Hinblick auf die klinischen Variablen zu einem positiven Therapieergebnis geführt. Dies äußerte sich in einer signifikanten Verbesserung aller erhobenen klinischen Variablen (PD, AL, BOP, API) zu den Untersuchungszeitpunkten t_1 ($p < 0,001$) und t_2 ($p < 0,001$) innerhalb jeder Probandengruppen im Vergleich zum Zeitpunkt Baseline. Für PD und AL konnten signifikante Unterschiede nach drei ($p < 0,001$) und sechs ($p < 0,001$) Monaten infolge SRP im Gruppenvergleich nachgewiesen werden. Demgegenüber waren BOP und API zu keiner Zeit signifikant verschieden zwischen den Gruppen.

Hinsichtlich der Mikrobiologie hat das angewandte Therapieverfahren für die Probanden der High Response Gruppe klinisch zum Erfolg geführt und erzielte signifikante Rückgänge zum Untersuchungszeitpunkt t_1 von:

Porphyromonas gingivalis ($p = 0,003$)

Prevotella intermedia ($p = 0,046$)

Filifactor alocis ($p = 0,025$).

Außerdem sanken zum Untersuchungszeitpunkt t_2 die Keimzahlen von:

Porphyromonas gingivalis ($p = 0,002$)

Tannerella forsythia ($p = 0,034$)

Treponema denticola ($p = 0,034$)

Filifactor alocis ($p = 0,014$).

Der Spezies *P. gingivalis* war die größte Reduktion nach Scaling und Root Planing während des Untersuchungszeitraumes nachzuweisen. Dies brachte signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zu t_1 ($p = 0,010$) und t_2 ($p = 0,027$) mit sich.

Für die Probanden der Low Response Gruppe blieben signifikante Rückgänge pathogener Mikroorganismen aus. Dafür war sechs Monate nach SRP ein signifikanter Anstieg der Keimzahlen von *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* feststellbar. Die Bakterien *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum/ necrophilus*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens* und *Capnocytophaga sputigena* zeigten über den gesamten Untersuchungszeitraum keine signifikanten Veränderungen sowohl innerhalb der Gruppen als auch im Gruppenvergleich.

Porphyromonas gingivalis konnte trotz seiner Virulenzfaktoren von allen zwölf untersuchten Mikroorganismen des subgingivalen Biofilms am meisten reduziert werden und nimmt die Rolle als wichtigster prognostischer Marker dieser Studie ein. Für zukünftige Untersuchungen könnte dies bedeuten, dass ein positiver Nachweis auf das Vorkommen des Bakteriums vor SRP sowie drei Monate danach eine Vorhersage für das Therapieergebnis liefert. Hierbei ist es erforderlich, dass das Vorhandensein von Leitpathogenen aufgedeckt wird. Mit Hilfe mikrobiologischer Analysen können Mikroorganismen als potentiell prognostische Marker für den Behandlungsausgang nachgewiesen werden.

7 Literaturverzeichnis

1. Altmeyer, P. and Paech, V. (2011): Enzyklopädie Dermatologie, Allergologie, Umweltmedizin. *Springer Verlag*, Berlin.
2. Amano, A. (2003): Molecular interaction of *Porphyromonas gingivalis* with host cells: implication for the microbial pathogenesis of periodontal disease. *Journal of Periodontology* 74 (1), 90–96.
3. Amano, A., Nakagawa, I., Okahashi, N. and Hamada, N. (2004): Variations of *Porphyromonas gingivalis* fimbriae in relation to microbial pathogenesis. *Journal of Periodontal Research* 39 (2), 136–142.
4. Andrian, E., Grenier, D. and Rouabhia, M. (2006): *Porphyromonas gingivalis*-epithelial cell interactions in periodontitis. *Journal of Dental Research* 85 (5), 392–403.
5. Arakawa, S., Nakajima, T., Ishikura, H., Ichinose, S., Ishikawa, I. and Tsuchida, N. (2000): Novel apoptosis-inducing activity in *Bacteroides forsythus*: a comparative study with three serotypes of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infection and Immunity* 68 (8), 4611-4615.
6. Armitage, G. C. (1999): Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of Periodontology* 4 (1), 1–6.
7. Armitage, G. C. (2003): Diagnosis of periodontal diseases. *Journal of Periodontology* 74 (8), 1237–1247.
8. Armitage, G. C. (2010): Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000* 53, 70–88.
9. Aruni, A. W., Chioma, O. and Fletcher, H. M. (2014): *Filifactor alocis*: the newly discovered kid on the block with special talents. *Journal of Dental Research* 93 (8), 725–732.
10. Aruni, A. W., Roy, F. and Fletcher, H. M. (2011): *Filifactor alocis* has virulence attributes that can enhance its persistence under oxidative stress conditions and mediate invasion of epithelial cells by *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and Immunity* 79 (10), 3872–3886.
11. Asai, Y., Jinno, T., Igarashi, H., Ohyama, Y. and Ogawa, T. (2002): Detection and quantification of oral treponemes in subgingival plaque by real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 40 (9), 3334–3340.
12. Axelsson, P., Nyström, B. and Lindhe, J. (2004): The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults. Results after 30 years of maintenance. *Journal of Clinical Periodontology* 31 (9), 749–757.
13. Badersten, A., Nilveus, R. and Egelberg, J. (1984): Effect of nonsurgical periodontal therapy. III. Single versus repeated instrumentation. *Journal of Clinical Periodontology* 11 (2), 114–124.
14. Barendregt, D. S., Van der Velden, U., Timmerman, M. F. and Van der Weijden, F. (2008): Penetration depths with an ultrasonic mini insert compared

- with a conventional curette in patients with periodontitis and in periodontal maintenance. *Journal of Clinical Periodontology* 35 (1), 31–36.
15. Beikler, T., Schnitzer, S., Abdeen, G., Ehmke, B., Eisenacher, M. and Flemmig, T. F. (2006): Sampling strategy for intraoral detection of periodontal pathogens before and following periodontal therapy. *Journal of Periodontology* 77 (8), 1323–1332.
 16. Berezow, A. B. and Darveau, R. P. (2011): Microbial shift and periodontitis. *Periodontology 2000* 55 (1), 36–47.
 17. Bostanci, N. and Belibasakis, G. N. (2012): *Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS Microbiology Letters* 333 (1), 1–9.
 18. Boutaga, K., Van Winkelhoff, A. J., Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E. and Savelkoul, P. H. M. (2006): The additional value of real-time PCR in the quantitative detection of periodontal pathogens. *Journal of Clinical Periodontology* 33 (6), 427–433.
 19. Braun, A., Dehn, C., Krause, F. and Jepsen, S. (2008): Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* 35 (10), 877–884.
 20. Braun, A., Krause, F., Nolden, R. and Frentzen, M. (2003): Subjective intensity of pain during the treatment of periodontal lesions with the Vector-system. *Journal of Periodontal Research* 38 (2), 135–140.
 21. Brink, B. and Romanos, G. (2007): Mikrobiologische Untersuchungen bei adjuvanten Laseranwendungen in der Parodontologie. *Zeitschrift für LaserZahnheilkunde* 4 (1), 37-42.
 22. Busslinger, A., Lampe, K., Beuchat, M. and Lehmann, B. (2001): A comparative in vitro study of a magnetostrictive and a piezoelectric ultrasonic scaling instrument. *Journal of Clinical Periodontology* 28 (7), 642–649.
 23. Chen, C., Wang, T. and Chen, W. (2010): Occurrence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotypes in subgingival plaque from United States subjects. *Molecular Oral Microbiology* 25 (3), 207–214.
 24. Chiang, C. Y., Kyritsis, G., Graves, D. T. and Amar, S. (1999): Interleukin-1 and tumor necrosis factor activities partially account for calvarial bone resorption induced by local injection of lipopolysaccharide. *Infection and Immunity* 67 (8), 4231–4236.
 25. Chioma, O., Aruni, A. W., Milford, T.-A. and Fletcher, H. M. (2016): *Filifactor alocis* collagenase can modulate apoptosis of normal oral keratinocytes. *Molecular Oral Microbiology* 32 (2), 166-177.
 26. Christgau, M., Manner, T., Beuer, S., Hiller, K.-A. and Schmalz, G. (2007): Periodontal healing after non-surgical therapy with a new ultrasonic device: a randomized controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* 34 (2), 137–147.
 27. Christodoulides, N., Nikolidakis, D., Chondros, P., Becker, J., Schwarz, F., Rossler, R. and Sculean, A. (2008): Photodynamic therapy as an adjunct to

- non-surgical periodontal treatment: a randomized, controlled clinical trial. *Journal of Periodontology* 79 (9), 1638–1644.
28. Ciantar, M., Gilthorpe, M. S., Hurel, S. J., Newman, H. N., Wilson, M. and Spratt, D. A. (2005): *Capnocytophaga* spp. in periodontitis patients manifesting diabetes mellitus. *Journal of Periodontology* 76 (2), 194–203.
 29. Claffey, N., Polyzois, I. and Ziaka, P. (2004): An overview of nonsurgical and surgical therapy. *Periodontology 2000* 36, 35–44.
 30. Cobb, C. M. (1996): Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Annals of Periodontology* 1 (1), 443–490.
 31. Cobb, C. M. (2002): Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *Journal of Clinical Periodontology* 29 (2), 6–16.
 32. Colombo, A. P. V., Boches, S. K., Cotton, S. L., Goodson, J. M., Kent, R. and Haffajee, A. D. et al. (2009): Comparisons of subgingival microbial profiles of refractory periodontitis, severe periodontitis, and periodontal health using the human oral microbe identification microarray. *Journal of Periodontology* 80 (9), 1421–1432.
 33. Colombo, A. P. V., Teles, R. P., Torres, M. C., Rosalem, W., Mendes, M. C. S., Souto, R. M. and Uzeda, M. de (2005): Effects of non-surgical mechanical therapy on the subgingival microbiota of Brazilians with untreated chronic periodontitis: 9-month results. *Journal of Periodontology* 76 (5), 778–784.
 34. Corbett. Rotor-Gene 2000 Real Time Amplification Operator`s Manual. 1/14 HillySt, Mortlake 2137 N.S.W. Australia: Corbett Research; 2000.
 35. Corless, C. E., Guiver, M., Borrow, R., Edwards-Jones, V., Fox, A. J. and Kaczmarek, E. B. (2001): Simultaneous detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, and *Streptococcus pneumoniae* in suspected cases of meningitis and septicemia using real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 39 (4), 1553–1558.
 36. Cugini, M. A., Haffajee, A. D., Smith, C., Kent, R. L. JR and Socransky, S. S. (2000): The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. *Journal of Clinical Periodontology* 27 (1), 30–36.
 37. Darby, I. B., Mooney, J. and Kinane, D. F. (2001): Changes in subgingival microflora and humoral immune response following periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* 28 (8), 796–805.
 38. Darveau, R. P. (2009): The oral microbial consortium's interaction with the periodontal innate defense system. *DNA and Cell Biology* 28 (8), 389–395.
 39. Dederich, D. N. and Bushick, R. D. (2004): Lasers in dentistry: separating science from hype. *Journal of the American Dental Association* 135 (2), 204–12.
 40. Deinzer, R., Micheelis, W., Granrath, N. and Hoffmann, T. (2009): More to learn about: periodontitis-related knowledge and its relationship with periodontal health behaviour. *Journal of Clinical Periodontology* 36 (9), 756–764.

41. Delima, A. J. and Van Dyke, T. E. (2003): Origin and function of the cellular components in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000* 31, 55–76.
42. Del Peloso Ribeiro, E., Bittencourt, S., Sallum, E. A., Nociti, F. H. JR, Goncalves, R. B. and Casati, M. Z. (2008): Periodontal debridement as a therapeutic approach for severe chronic periodontitis: a clinical, microbiological and immunological study. *Journal of Clinical Periodontology* 35 (9), 789–798.
43. Derdilopoulou, F. V., Nonhoff, J., Neumann, K. and Kielbassa, A. M. (2007): Microbiological findings after periodontal therapy using curettes, Er:YAG laser, sonic, and ultrasonic scalers. *Journal of Clinical Periodontology* 34 (7), 588–598.
44. Dewhirst, F. E., Chen, T., Izard, J., Paster, B. J., Tanner, A. C. R. and Yu, W.-H. et al. (2010): The human oral microbiome. *Journal of Bacteriology* 192 (19), 5002–5017.
45. Dorn, B. R., Burks, J. N., Seifert, K. N. and Progulske-Fox, A. (2000): Invasion of endothelial and epithelial cells by strains of *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Microbiology Letters* 187 (2), 139–144.
46. Doungudomdacha, S., Rawlinson, A., Walsh, T. F. and Douglas, C. W. (2001): Effect of non-surgical periodontal treatment on clinical parameters and the numbers of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* at adult periodontitis sites. *Journal of Clinical Periodontology* 28 (5), 437–445.
47. Drisko, C. H. (2001): Nonsurgical periodontal therapy. *Periodontology 2000* 25, 77–88.
48. Drisko, C. L., Cobb, C. M., Killoy, W. J., Michalowicz, B. S., Pihlstrom, B. L. and Lowenguth, R. A. et al. (1995): Evaluation of periodontal treatments using controlled-release tetracycline fibers: clinical response. *Journal of Periodontology* 66 (8), 692–699.
49. Dumitrescu, A. L. (2010): Etiology and pathogenesis of periodontal disease. Berlin, London: *Springer Verlag*.
50. Eberhard, J., Jepsen, S., Jervøe-Storm, P.-M., Needleman, I. and Worthington, H. V. (2008): Full-mouth disinfection for the treatment of adult chronic periodontitis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* (1). CD004622.
51. Ehmke, B., Moter, A., Beikler, T., Milian, E. and Flemmig, T. F. (2005): Adjunctive antimicrobial therapy of periodontitis: long-term effects on disease progression and oral colonization. *Journal of Periodontology* 76 (5), 749–759.
52. Eick, S. and Pfister, W. (2002): Comparison of microbial cultivation and a commercial PCR based method for detection of periodontopathogenic species in subgingival plaque samples. *Journal of Clinical Periodontology* 29 (7), 638–644.
53. Eick, S., Reissmann, A., Rodel, J., Schmidt, K.-H. and Pfister, W. (2006): *Porphyromonas gingivalis* survives within KB cells and modulates inflammatory response. *Oral Microbiology and Immunology* 21 (4), 231–237.
54. Eick, S., Straube, A., Guentsch, A., Pfister, W. and Jentsch, H. (2011): Comparison of real-time polymerase chain reaction and DNA-strip technology

- in microbiological evaluation of periodontitis treatment. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 69 (1), 12–20.
55. Eickholz, P. (2007): Glossar der Grundbegriffe für die Praxis – Unterstützende Parodontitistherapie (UPT). Teil 1: Ziele und Inhalte. *Parodontologie* 2, 165-170.
 56. Eickholz, P. (2011): Glossar der Grundbegriffe für die Praxis. Instrumentierung der Zahnoberfläche. *Parodontologie* 22 (4), 407-412.
 57. Eickholz, P. (2013): Parodontologie von A bis Z. Grundbegriffe für die Praxis. *Quintessenz Verlag*, Berlin 1. Auflage.
 58. Eley, B. and Cox, S. (2003): Proteolytic and hydrolytic enzymes from putative periodontal pathogens: characterization, molecular genetics, effects on host defenses and tissues and detection in gingival crevice fluid. *Periodontology* 2000 31, 105-124.
 59. Feng, Z. and Weinberg, A. (2006): Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues. *Periodontology* 2000 40, 50–76.
 60. Fischer, K. and Fickl, S. (2011): Scaling von A bis Z - Grundlagen der nichtchirurgischen Parodontaltherapie. *Quintessenz* 3, 289ff.
 61. Fitzpatrick, R. E., Wijeyewickrema, L. C. and Pike, R. N. (2009): The gingipains: scissors and glue of the periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis*. *Future Microbiology* 4 (4), 471–487.
 62. Flemmig, T. and Petersilka, G. (2003): Schall- und Ultraschallscaler in der Parodontitistherapie. Wissenschaftliche Stellungnahme. www.dgparo.de.
 63. Ford, P. J., Gemmell, E., Chan, A., Carter, C. L., Walker, P. J. and Bird, P. S. et al. (2006): Inflammation, heat shock proteins and periodontal pathogens in atherosclerosis: an immunohistologic study. *Oral Microbiology and Immunology* 21 (4), 206–211.
 64. Frentzen, M., Sculean, A. and Visser, H. (2005): Laser in der Parodontologie. Wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK und DGP. *Deutsche Zahnärztliche Zeitung* 60 (6), www.dgzmk.de.
 65. Fujise, O., Chen, W., Rich, S. and Chen, C. (2004): Clonal diversity and stability of subgingival *Eikenella corrodens*. *Journal of Clinical Microbiology* 42 (5), 2036–2042.
 66. Fujise, O., Hamachi, T., Inoue, K., Miura, M. and Maeda, K. (2002): Microbiological markers for prediction and assessment of treatment outcome following non-surgical periodontal therapy. *Journal of Periodontology* 73 (11), 1253–1259.
 67. Furuta, N., Takeuchi, H. and Amano, A. (2009): Entry of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles into epithelial cells causes cellular functional impairment. *Infection and Immunity* 77 (11), 4761–4770.
 68. Gängler, P. and Arnold, W. H. (2010): Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie. *Thieme Verlag*, Stuttgart 3. Auflage.
 69. Gonzalez-Munoz, L., Flichy-Fernandez, A. J., Ata-Ali, J., Pascual-Mascardo, A. and Penarrocha-Diago, M. A. (2011): Effect of ozone therapie upon clinical and bacteriological parameters of the oral cavity: an update. *Journal Section: Clinical and Experimental Dentistry* 3 (4): e325-7.

70. Graetz, C., Schwendicke, F., Plaumann, A., Rauschenbach, S., Springer, C. and Kahl, M. et al. (2015): Subgingival instrumentation to remove simulated plaque in vitro: influence of operators' experience and type of instrument. *Clinical Oral Investigations* 19 (5), 987–995.
71. Greenstein, G. (2000): Nonsurgical periodontal therapy in 2000: a literature review. *Journal of the American Dental Association* 131 (11), 1580–1592.
72. Greenstein, G. and Lamster, I. (1997): Bacterial transmission in periodontal diseases: a critical review. *Journal of Periodontology* 68 (5), 421–431.
73. Griffen, A. L., Beall, C. J., Campbell, J. H., Firestone, N. D., Kumar, P. S. and Yang, Z. K. et al. (2012): Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing. *The ISME Journal* 6 (6), 1176–1185.
74. Griffen, A. L., Beall, C. J., Firestone, N. D., Gross, E. L., Difranco, J. M. and Hardman, J. H. et al. (2011): CORE: a phylogenetically-curated 16S rDNA database of the core oral microbiome. *PloS One* 6 (4), e19051.
75. Guarnelli, M. E., Franceschetti, G., Manfrini, R. and Trombelli, L. (2008): Adjunctive effect of chlorhexidine in ultrasonic instrumentation of aggressive periodontitis patients: a pilot study. *Journal of Clinical Periodontology* 35 (4), 333–341.
76. Gursoy, U. K., Kononen, E. and Uitto, V.-J. (2009): *Prevotella intermedia* ATCC 25611 targets host cell lamellipodia in epithelial cell adhesion and invasion. *Oral Microbiology and Immunology* 24 (4), 304–309.
77. Gusman, H., Travis, J., Helmerhorst, E. J., Potempa, J., Troxler, R. F. and Oppenheim, F. G. (2001): Salivary histatin 5 is an inhibitor of both host and bacterial enzymes implicated in periodontal disease. *Infection and Immunity* 69 (3), 1402–1408.
78. Gutierrez-Venegas, G., Contreras-Marmolejo, L. A., Roman-Alvarez, P. and Barajas-Torres, C. (2008): *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* lipopolysaccharide affects human gingival fibroblast cytoskeletal organization. *Cell Biology International* 32 (4), 417–426.
79. Gutierrez-Venegas, G., Kawasaki-Cardenas, P., Garces, C. P., Roman-Alvarez, P., Barajas-Torres, C. and Contreras-Marmolejo, L. A. (2007): *Actinobacillus actinomycetemcomitans* adheres to human gingival fibroblasts and modifies cytoskeletal organization. *Cell Biology International* 31 (9), 1063–1068.
80. Haffajee, A. D., Arguello, E. I., Ximenez-Fyvie, L. A. and Socransky, S. S. (2003): Controlling the plaque biofilm. *International Dental Journal* 53 (3), 191–199.
81. Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Dibart, S., Smith, C., Kent, R. L. JR and Socransky, S. S. (1997): The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology* 24 (5), 324–334.
82. Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Tanner, A., Pollack, R. P., Smith, C., Kent, R. L. JR and Socransky, S. S. (1998): Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *Journal of Clinical Periodontology* 25 (5), 346–353.

83. Haffajee, A. D., Dzink, J. L. and Socransky, S. S. (1988): Effect of modified Widman flap surgery and systemic tetracycline on the subgingival microbiota of periodontal lesions. *Journal of Clinical Periodontology* 15 (4), 255–262.
84. Haffajee, A. D. and Socransky, S. S. (1992): Effect of sampling strategy on the false-negative rate for detection of selected subgingival species. *Oral Microbiology and Immunology* 7 (1), 57–59.
85. Haffajee, A. D., Teles, R. P. and Socransky, S. S. (2006): Association of *Eubacterium nodatum* and *Treponema denticola* with human periodontitis lesions. *Oral Microbiology and Immunology* 21 (5), 269–282.
86. Hain Lifescience (2004): Interne Gebrauchsanweisung. Der micro-IDent® Test, S. 2.
87. Hajishengallis, G. (2009): *Porphyromonas gingivalis*-host interactions: open war or intelligent guerilla tactics? *Microbes and Infection* 11 (6-7), 637–645.
88. Hajishengallis, G. and Lamont, R. J. (2012): Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Molecular Oral Microbiology* 27 (6), 409–419.
89. Hajishengallis, G., Liang, S., Payne, M. A., Hashim, A., Jotwani, R. and Eskan, M. A. et al. (2011): Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell Host & Microbe* 10 (5), 497–506.
90. Hamed, M., Belibasakis, G. N., Cruchley, A. T., Rangarajan, M., Curtis, M. A. and Bostanci, N. (2009): *Porphyromonas gingivalis* culture supernatants differentially regulate interleukin-1beta and interleukin-18 in human monocytic cells. *Cytokine* 45 (2), 99–104.
91. Han, Y. W., Shi, W., Huang, G. T., Kinder Haake, S., Park, N. H., Kuramitsu, H. and Genco, R. J. (2000): Interactions between periodontal bacteria and human oral epithelial cells: *Fusobacterium nucleatum* adheres to and invades epithelial cells. *Infection and Immunity* 68 (6), 3140–3146.
92. Hartroth, B., Seyfahrt, I. and Conrads, G. (1999): Sampling of periodontal pathogens by paper points: evaluation of basic parameters. *Oral Microbiology and Immunology* 14 (5), 326-330.
93. Haubek, D. (2010): The highly leukotoxic JP2 clone of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: evolutionary aspects, epidemiology and etiological role in aggressive periodontitis. *APMIS. Supplementum Journal* (130), 1–53.
94. Heitz-Mayfield, L. J. A., Trombelli, L., Heitz, F., Needleman, I. and Moles, D. (2002): A systematic review of the effect of surgical debridement vs non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 29 (3), 92-102.
95. Hellwege, K.-D. (2007): Die Praxis der professionellen Zahnreinigung & Ultraschall-Scaling. *Georg Thieme Verlag, Stuttgart* 3. Auflage.
96. Holt, S. C. and Ebersole, J. L. (2005): *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontology* 2000 38, 72–122.

97. Huang, Y., Umeda, M., Takeuchi, Y., Ishizuka, M., Yano-Higuchi, K. and Ishikawa, I. (2003): Distribution of *Bacteroides forsythus* genotypes in a Japanese periodontitis population. *Oral Microbiology and Immunology* 18 (4), 208–214.
98. Hung, H.-C. and Douglass, C. W. (2002): Meta-analysis of the effect of scaling and root planing, surgical treatment and antibiotic therapies on periodontal probing depth and attachment loss. *Journal of Clinical Periodontology* 29 (11), 975–986.
99. Hussain, M., Stover, C. M. and Dupont, A. (2015): *P. gingivalis* in periodontal disease and atherosclerosis – scenes of action for antimicrobial peptides and complement. *Frontiers in Immunology* 6, 45.
100. Hutter, G., Schlagenhauf, U., Valenza, G., Horn, M., Burgemeister, S., Claus, H. and Vogel, U. (2003): Molecular analysis of bacteria in periodontitis: evaluation of clone libraries, novel phylotypes and putative pathogens. *Microbiology* 149 (1), 67–75.
101. Ihara, H., Miura, T., Kato, T., Ishihara, K., Nakagawa, T., Yamada, S. and Okuda, K. (2003): Detection of *Campylobacter rectus* in periodontitis sites by monoclonal antibodies. *Journal of Periodontal Research* 38 (1), 64–72.
102. Ikegami, A., Chung, P. and Han, Y. W. (2009): Complementation of the fadA mutation in *Fusobacterium nucleatum* demonstrates that the surface-exposed adhesin promotes cellular invasion and placental colonization. *Infection and Immunity* 77 (7), 3075–3079.
103. Imamura, T., Banbula, A., Pereira, P. J., Travis, J. and Potempa, J. (2001): Activation of human prothrombin by arginine-specific cysteine proteinases (Gingipains R) from *Porphyromonas gingivalis*. *The Journal of Biological Chemistry* 276 (22), 18984–18991.
104. Imamura, T., Travis, J. and Potempa, J. (2003): The biphasic virulence activities of gingipains: activation and inactivation of host proteins. *Current Protein & Peptide Science* 4 (6), 443–450.
105. Ioannou, I., Dimitriadis, N., Papadimitriou, K., Sakellari, D., Vouros, I. and Konstantinidis, A. (2009): Hand instrumentation versus ultrasonic debridement in the treatment of chronic periodontitis: a randomized clinical and microbiological trial. *Journal of Clinical Periodontology* 36 (2), 132–141.
106. Jentsch, H., Cachovan, G., Guentsch, A., Eickholz, P., Pfister, W. and Eick, S. (2012): Characterization of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* strains in periodontitis patients in Germany. *Clinical Oral Investigations* 16 (6), 1589–1597.
107. Jentsch, H., Friedrich, S. and Göcke, R. (2001): Taschenspülung bei Parodontitis marginalis. *Oralprophylaxe* 23 (3), 137-142.
108. Jentsch, H. and Purschwitz, R. (2008): A clinical study evaluating the treatment of supra-alveolar-type defects with access flap surgery with and without an enamel matrix protein derivative: a pilot study. *Journal of Clinical Periodontology* 35 (8), 713–718.
109. Jervøe-Storm, P.-M., Alahdab, H., Koltzsch, M., Fimmers, R. and Jepsen, S. (2007): Comparison of curet and paper point sampling of subgingival bacteria

- as analyzed by real-time polymerase chain reaction. *Journal of Periodontology* 78 (5), 909–917.
110. Jervøe-Storm, P.-M., Koltzsch, M., Falk, W., Dorfler, A. and Jepsen, S. (2005): Comparison of culture and real-time PCR for detection and quantification of five putative periodontopathogenic bacteria in subgingival plaque samples. *Journal of Clinical Periodontology* 32 (7), 778–783.
 111. Jervøe-Storm, P.-M., Semaan, E., Alahdab, H., Engel, S., Fimmers, R. and Jepsen, S. (2006): Clinical outcomes of quadrant root planing versus full-mouth root planing. *Journal of Clinical Periodontology* 33 (3), 209–215.
 112. Johansson, A., Buhlin, K., Koski, R. and Gustafsson, A. (2005): The immunoreactivity of systemic antibodies to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in adult periodontitis. *European Journal of Oral Sciences* 113 (3), 197–202.
 113. Jordan, A. R. and Micheelis, W. (2016): Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V). Deutscher Ärzteverlag (DÄV), Köln.
 114. Joss, A., Adler, R. and Lang, N. P. (1994): Bleeding on probing. A parameter for monitoring periodontal conditions in clinical practice. *Journal of Clinical Periodontology* 21 (6), 402–408.
 115. Kaldahl, W. B., Kalkwarf, K. L. and Patil, K. D. (1993): A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. *Journal of Periodontology* 64 (4), 243–253.
 116. Kang, M.-S., Kim, B.-G., Chung, J., Lee, H.-C. and Oh, J.-S. (2006): Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulphur compounds. *Journal of Clinical Periodontology* 33 (3), 226–232.
 117. Kaplan, J. B., Perry, M. B., MacLean, L. L., Furgang, D., Wilson, M. E. and Fine, D. H. (2001): Structural and genetic analyses of O polysaccharide from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype f. *Infection and Immunity* 69 (9), 5375–5384.
 118. Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J. and Marcenes, W. (2014): Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *Journal of Dental Research* 93, 1045-1053.
 119. Kawada, M., Yoshida, A., Suzuki, N., Nakano, Y., Saito, T., Oho, T. and Koga, T. (2004): Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* in relation to periodontal status assessed by real-time PCR. *Oral Microbiology and Immunology* 19 (5), 289–292.
 120. Kawashima, H., Sato, S., Kishida, M. and Ito, K. (2007): A comparison of root surface instrumentation using two piezoelectric ultrasonic scalers and a hand scaler in vivo. *Journal of Periodontal Research* 42 (1), 90–95.
 121. Kayser, F. H., Böttger, E. C., Zinkernagel, R. M., Haller, O., Eckert, J., and Deplazes, P. (2005): Taschenlehrbuch Medizinische Mikrobiologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 11. Auflage.
 122. Keijser, B. J. F., Zaura, E., Huse, S. M., Van der Vossen, J. M. B. M., Schuren, F. H. J. and Montijn, R. C. et al. (2008): Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *Journal of Dental Research* 87 (11), 1016–1020.

123. Khosravi, M., Bahrami, Z. S., Atabaki, M. S. J., Shokrgozar, M. A. and Shokri, F. (2004): Comparative effectiveness of hand and ultrasonic instrumentations in root surface planing in vitro. *Journal of Clinical Periodontology* 31 (3), 160–165.
124. Kim, T.-S., Frank, P., Eickholz, P., Eick, S. and Kim, C. K. (2009): Serotypes of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in patients with different ethnic backgrounds. *Journal of Periodontology* 80 (12), 2020–2027.
125. Klinger, G., Klinger, M., Pertsch, J., Güntsch, A. and Börner, D. (2000): Parodontaltherapie mit Hilfe des Ultraschallgerätes Vector. *Quintessenz* 51, 813-820.
126. Knöfler, G., Purschwitz, R. and Jentsch, H. (2007): Clinical evaluation of partial- and full-mouth scaling in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of Periodontology* 78 (11), 2135–2142.
127. Knöfler, G., Purschwitz, R., Jentsch, H., Birkenmeier, G. and Schmidt, H. (2008): Gingival crevicular fluid levels of aspartate aminotransferase and alpha2-macroglobulin before and after topical application of metronidazole or scaling and root planing. *Quintessence* 39 (5), 381–389.
128. Kocher, T., Langenbeck, M., Ruhling, A. and Plagmann, H. C. (2000): Subgingival polishing with a teflon-coated sonic scaler insert in comparison to conventional instruments as assessed on extracted teeth. (I) Residual deposits. *Journal of Clinical Periodontology* 27 (4), 243–249.
129. Köhler, W., Ansorg, R. and Brandis, H. (2001): Medizinische Mikrobiologie. *Urban & Fischer Verlag, München* 8. Auflage.
130. Kohal, R. J. and Dennison, D. K. (2000): Neue Paradigmen in der Pathogenese parodontaler Erkrankungen. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 55, 660-666.
131. Kook, J.-K., Sakamoto, T., Nishi, K., Kim, M.-K., Seong, J.-H., Son, Y. N. and Kim, D.-K. (2005): Detection of *Tannerella forsythia* and/or *Prevotella intermedia* might be useful for microbial predictive markers for the outcome of initial periodontal treatment in Koreans. *Microbiology and Immunology* 49 (1), 9–16.
132. Kornman, K. S. (2008): Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *Journal of Periodontology* 79 (8), 1560–1568.
133. Krigar, D.-M., Kaltschmitt, J., Krieger, J. K. and Eickholz, P. (2007): Two subgingival plaque-sampling strategies used with RNA probes. *Journal of Periodontology* 78 (1), 72–78.
134. Kuboniwa, M., Amano, A., Hashino, E., Yamamoto, Y., Inaba, H. and Hamada, N. et al. (2009): Distinct roles of long/short fimbriae and gingipains in homotypic biofilm development by *Porphyromonas gingivalis*. *BMC Microbiology* 9, 105.
135. Kumar, P. S., Leys, E. J., Bryk, J. M., Martinez, F. J., Moeschberger, M. L. and Griffen, A. L. (2006): Changes in periodontal health status are associated with bacterial community shifts as assessed by quantitative 16S cloning and sequencing. *Journal of Clinical Microbiology* 44 (10), 3665–3673.
136. Lamont, R. J. and Yilmaz, O. (2002): In or out: the invasiveness of oral bacteria. *Periodontology 2000* 30, 61–69.

137. Lang, N. P., Adler, R., Joss, A. and Nyman, S. (1990): Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability. *Journal of Clinical Periodontology* 17 (10), 714–721.
138. Lang, N. P., Nyman, S., Senn, C. and Joss, A. (1991): Bleeding on probing as it relates to probing pressure and gingival health. *Journal of Clinical Periodontology* 18 (4), 257–261.
139. Lange, D. E., Plagmann, H.-C., Eenboom, A. and Promesberger, A. (1977): Klinische Bewertungsverfahren zur Objektivierung der Mundhygiene. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 32, 44-47.
140. Lau, L., Sanz, M., Herrera, D., Morillo, J. M., Martin, C. and Silva, A. (2004): Quantitative real-time polymerase chain reaction versus culture: a comparison between two methods for the detection and quantification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in subgingival plaque samples. *Journal of Clinical Periodontology* 31 (12), 1061–1069.
141. Lea, S. C., Landini, G. and Walmsley, A. D. (2003): Displacement amplitude of ultrasonic scaler inserts. *Journal of Clinical Periodontology* 30 (6), 505–510.
142. Lea, S. C. and Walmsley, A. D. (2009): Mechano-physical and biophysical properties of power-driven scalers: driving the future of powered instrument design and evaluation. *Periodontology 2000* 51, 63–78.
143. Lee, C.-H., Kho, H.-S., Chung, S.-C., Lee, S.-W. and Kim, Y.-K. (2003): The relationship between volatile sulfur compounds and major halitosis-inducing factors. *Journal of Periodontology* 74 (1), 32–37.
144. Lee, Y., Straffon, L. H., Welch, K. B. and Loesche, W. J. (2006): The transmission of anaerobic periodontopathic organisms. *Journal of Dental Research* 85 (2), 182–186.
145. Li, H., Arakawa, S., Deng, Q. D. and Kuramitsu, H. (1999): Characterization of a novel methyl-accepting chemotaxis gene, *dmcB*, from the oral spirochete *Treponema denticola*. *Infection and Immunity* 67 (2), 694–699.
146. Li, J., Helmerhorst, E. J., Leone, C. W., Troxler, R. F., Yaskell, T., Haffajee, A. D., Socransky, S. S. and Oppenheim, F. G. (2004): Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *Journal of Applied Microbiology* 97 (6), 1311–1318.
147. Lindhe, J., Ranney, R., Lamster, I., Charles, A., Chung, C.-P. and Flemmig, T. et al. (1999): Consensus report: chronic periodontitis. *Annals of Periodontology* 4 (1), 38.
148. Liu, P.-F., Haake, S. K., Gallo, R. L. and Huang, C.-M. (2009): A novel vaccine targeting *Fusobacterium nucleatum* against abscesses and halitosis. *Vaccine* 27 (10), 1589–1595.
149. Loomer, P. M. (2004): Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases. *Periodontology 2000* 34, 49–56.
150. López, R., Dahlen, G., Retamales, C. and Baelum, V. (2011): Clustering of subgingival microbial species in adolescents with periodontitis. *European Journal of Oral Sciences* 119 (2), 141–150.

151. Lowenguth, R. A. and Greenstein, G. (1995): Clinical and microbiological response to nonsurgical mechanical periodontal therapy. *Periodontology* 2000 9, 14–22.
152. Marsh, P. D. (2005): Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *Journal of Clinical Periodontology* 32 (6), 7–15.
153. Martin, M. V. and Marsh, P. (2003): Orale Mikrobiologie. *Georg Thieme Verlag, Stuttgart* 1. Auflage.
154. McAvin, J. C., Reilly, P. A., Roudabush, R. M., Barnes, W. J., Salmen, A. and Jackson, G. W. et al. (2001): Sensitive and specific method for rapid identification of *Streptococcus pneumoniae* using real-time fluorescence PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 39 (10), 3446–3451.
155. Michalowicz, B. S., Diehl, S. R., Gunsolley, J. C., Sparks, B. S., Brooks, C. N. and Koertge, T. E. et al. (2000): Evidence of a substantial genetic basis for risk of adult periodontitis. *Journal of Periodontology* 71 (11), 1699–1707.
156. Mineoka, T., Awano, S., Rikimaru, T., Kurata, H., Yoshida, A., Ansai, T. and Takehara, T. (2008): Site-specific development of periodontal disease is associated with increased levels of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* in subgingival plaque. *Journal of Periodontology* 79 (4), 670–676.
157. Moen, K., Brun, J. G., Madland, T. M., Tynning, T. and Jonsson, R. (2003): Immunoglobulin G and A antibody responses to *Bacteroides forsythus* and *Prevotella intermedia* in sera and synovial fluids of arthritis patients. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 10 (6), 1043–1050.
158. Mombelli, A., Gmür, R., Gobbi, C. and Lang, N. P. (1994): Actinobacillus actinomycetemcomitans in adult periodontitis. I. Topographic distribution before and after treatment. *Journal of Periodontology* 65 (9), 820–826.
159. Morillo, J. M., Lau, L., Sanz, M., Herrera, D., Martin, C. and Silva, A. (2004): Quantitative real-time polymerase chain reaction based on single copy gene sequence for detection of periodontal pathogens. *Journal of Clinical Periodontology* 31 (12), 1054–1060.
160. Müller, H.-P. (2012): Checklisten der Zahnmedizin, Parodontologie. *Georg Thieme Verlag, Stuttgart* 3. Auflage.
161. Narayanan, D., Hamlet, S., Cullinan, M., Davies, R., Ellwood, R., Bird, P. and Seymour, G. J. (2005): The distribution of *Tannerella forsythia* in an adolescent and adult population. *Journal of Periodontal Research* 40 (6), 482–488.
162. Needleman, I., Tucker, R., Giedrys-Leeper, E. and Worthington, H. (2002): A systematic review of guided tissue regeneration for periodontal infrabony defects. *Journal of Periodontal Research* 37 (5), 380–388.
163. Nobbs, A. H., Jenkinson, H. F. and Jakubovics, N. S. (2011): Stick to your gums: mechanisms of oral microbial adherence. *Journal of Dental Research* 90 (11), 1271–1278.
164. Nørskov-Lauritsen, N. and Kilian, M. (2006): Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus*

- comb. nov.* and *Aggregatibacter segnis comb. nov.*, and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56 (9), 2135–2146.
165. Obeid, P. R., D'Hoore, W. and Bercy, P. (2004): Comparative clinical responses related to the use of various periodontal instrumentation. *Journal of Clinical Periodontology* 31 (3), 193–199.
 166. Ohlrich, E. J., Cullinan, M. P. and Seymour, G. J. (2009): The immunopathogenesis of periodontal disease. *Australian Dental Journal* 54 (1), 2-10.
 167. Ota-Tsuzuki, C. and Alves Mayer, M. P. (2010): Collagenase production and hemolytic activity related to 16S rRNA variability among *Parvimonas micra* oral isolates. *Anaerobe* 16 (1), 38–42.
 168. Papaioannou, W., Gizani, S., Haffajee, A. D., Quirynen, M., Mamai-Homata, E. and Papagiannoulis, L. (2009): The microbiota on different oral surfaces in healthy children. *Oral Microbiology and Immunology* 24 (3), 183–189.
 169. Paster, B. J., Olsen, I., Aas, J. A. and Dewhirst, F. E. (2006): The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontology 2000* 42, 80–87.
 170. Pedrazzoli, V., Kilian, M., Karring, T. and Kirkegaard, E. (1991): Effect of surgical and non-surgical periodontal treatment on periodontal status and subgingival microbiota. *Journal of Clinical Periodontology* 18 (8), 598–604.
 171. Pellacchia, V., Terenzi, V., Moricca, L. M., Buonaccorsi, S., Indrizzi, E. and Fini, G. (2006): Brain abscess by mycotic and bacterial infection in a diabetic patient: clinical report and review of literature. *The Journal of Craniofacial Surgery* 17 (3), 578–584.
 172. Periasamy, S. and Kolenbrander, P. E. (2009): *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* builds mutualistic biofilm communities with *Fusobacterium nucleatum* and *Veillonella* species in saliva. *Infection and Immunity* 77 (9), 3542–3551.
 173. Petersilka, G., Ehmke, B. and Flemmig, T. (2002): Antimicrobial effects of mechanical debridement. *Periodontology 2000* 28, 56–71.
 174. Petersilka, G. and Flemmig, T. (2004): Periodontal debridement with sonic and ultrasonic scalers. *Periodontology 2000* (1), 4 : 353-362.
 175. Petersilka, G. and Flemmig, T. (2005): Schall- und Ultraschallscaler in der Parodontitistherapie. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 60 (6).
 176. Pihlström, B. L., Michalowicz, B. S. and Johnson, N. W. (2005): Periodontal diseases. *Lancet* 366 (9499), 1809–1820.
 177. Polak, D., Wilensky, A., Shapira, L., Halabi, A., Goldstein, D., Weiss, E. I. and Hour-Haddad, Y. (2009): Mouse model of experimental periodontitis induced by *Porphyromonas gingivalis*/*Fusobacterium nucleatum* infection: bone loss and host response. *Journal of Clinical Periodontology* 36 (5), 406–410.
 178. Polson, A. M., Frederick, G. T., Ladenheim, S. and Hanes, P. J. (1984): The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid. *Journal of Periodontology* 55 (8), 443–446.

179. Popadiak, K., Potempa, J., Riesbeck, K. and Blom, A. M. (2007): Biphasic effect of gingipains from *Porphyromonas gingivalis* on the human complement system. *Journal of Immunology* 178 (11), 7242–7250.
180. Potempa, J., Banbula, A. and Travis, J. (2000): Role of bacterial proteinases in matrix destruction and modulation of host responses. *Periodontology* 2000 24, 153–192.
181. Potempa, J., Pike, R. and Travis, J. (1997): Titration and mapping of the active site of cysteine proteinases from *Porphyromonas gingivalis* (gingipains) using peptidyl chloromethanes. *Biological Chemistry* 378 (3-4), 223–230.
182. Potempa, M., Potempa, J., Kantyka, T., Nguyen, K.-A., Wawrzonek, K. and Manandhar, S. P. et al. (2009): Interpain A, a cysteine proteinase from *Prevotella intermedia*, inhibits complement by degrading complement factor C3. *PLoS Pathogens* 5 (2), e1000316.
183. Renvert, S., Wikstrom, M., Dahlen, G., Slots, J. and Egelberg, J. (1990): Effect of root debridement on the elimination of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets. *Journal of Clinical Periodontology* 17 (6), 345–350.
184. Riep, B., Edesi-Neuss, L., Claessen, F., Skarabis, H., Ehmke, B. and Flemmig, T. et al. (2009): Are putative periodontal pathogens reliable diagnostic markers? *Journal of Clinical Microbiology* 47 (6), 1705–1711.
185. Riggio, M. P., Lennon, A. and Smith, A. (2001): Detection of *Peptostreptococcus micros* DNA in clinical samples by PCR. *Journal of Medical Microbiology* 50 (3), 249–254.
186. Riggio, M. P., Macfarlane, T. W., Mackenzie, D., Lennon, A., Smith, A. J. and Kinane, D. (1996): Comparison of polymerase chain reaction and culture methods for detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in subgingival plaque samples. *Journal of Periodontal Research* 31 (7), 496–501.
187. Riviere, G., Elliot, K., Adams, D., Simonson, L., Forgas, L., Nilius, A. and Lukehart, S. (1992): Relative proportions of pathogen-related oral spirochetes (PROS) and *Treponema denticola* in supragingival and subgingival plaque from patients with periodontitis. *Journal of Periodontology* 63, 131-136.
188. Rogers, J. E., Li, F., Coatney, D. D., Rossa, C., Bronson, P. and Krieder, J. M. et al. (2007): *Actinobacillus actinomycetemcomitans* lipopolysaccharide-mediated experimental bone loss model for aggressive periodontitis. *Journal of Periodontology* 78 (3), 550–558.
189. Rudney, J. D., Chen, R. and Sedgewick, G. J. (2001): Intracellular *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in buccal epithelial cells collected from human subjects. *Infection and Immunity* 69 (4), 2700–2707.
190. Rühling, A., Schlemme, H., König, J., Kocher, T., Schwahn, C. and Plagmann, H. C. (2002): Learning root debridement with curettes and power-driven instruments. Part I: a training program to increase effectivity. *Journal of Clinical Periodontology* 29 (7), 622–629.

191. Saito, A., Inagaki, S. and Ishihara, K. (2009): Differential ability of periodontopathic bacteria to modulate invasion of human gingival epithelial cells by *Porphyromonas gingivalis*. *Microbial Pathogenesis* 47 (6), 329–333.
192. Sakamoto, M., Takeuchi, Y., Umeda, M., Ishikawa, I. and Benno, Y. (2001): Rapid detection and quantification of five periodontopathic bacteria by real-time PCR. *Microbiology and Immunology* 45 (1), 39–44.
193. Salari, M. H. and Kadkhoda, Z. (2004): Rate of cultivable subgingival periodontopathogenic bacteria in chronic periodontitis. *Journal of Oral Science* 46 (3), 157-161.
194. Sanderink, R. B. A. (2004): Curriculum orale Mikrobiologie und Immunologie: Grundlagen der oralen Mikrobiologie und Immunologie ; Mikroorganismen in der Mundhöhle ; die gesunde und die kranke Mundhöhle ; angewandte Mikrobiologie und Immunologie. *Quintessenz Verlag*, Berlin.
195. Sanz, I., Alonso, B., Carasol, M., Herrera, D. and Sanz, M. (2012): Nonsurgical treatment of periodontitis. *The Journal of Evidence-based Dental Practice* 12 (3), 76–86.
196. Sbordone, L., Ramaglia, L., Gulletta, E. and Iacono, V. (1990): Recolonization of the subgingival microflora after scaling and root planing in human periodontitis. *Journal of Periodontology* 61 (9), 579–584.
197. Schacher, B., Baron, F., Rossberg, M., Wohlfeil, M., Arndt, R. and Eickholz, P. (2007): *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* as indicator for aggressive periodontitis by two analysing strategies. *Journal of Clinical Periodontology* 34 (7), 566-573.
198. Schäfer, I. and Petersilka, G. (2010): Schall- und Ultraschallscaler in der Parodontitistherapie. *Quintessenz* 61 (1), 61-72.
199. Schlafer, S., Riep, B., Griffen, A. L., Petrich, A., Hubner, J. and Berning, M. et al. (2010): *Filifactor alocis*-involvement in periodontal biofilms. *BMC Microbiology* 10, 66.
200. Schulz, S., Machulla, H. K. G., Altermann, W., Klapproth, J., Zimmermann, U. and Glaser, C. et al. (2008): Genetic markers of tumour necrosis factor alpha in aggressive and chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 35 (6), 493–500.
201. Schwarz, F., Aoki, A., Becker, J. and Sculean, A. (2008): Laser application in non-surgical periodontal therapy: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology* 35 (8), 29–44.
202. Sculean, A., Schwarz, F., Berakdar, M., Romanos, G. E., Brex, M., Willershausen, B. and Becker, J. (2004): Non-surgical periodontal treatment with a new ultrasonic device (Vector-ultrasonic system) or hand instruments. *Journal of Clinical Periodontology* 31 (6), 428–433.
203. Sela, M. N. (2001): Role of *Treponema denticola* in periodontal diseases. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine : an Official Publication of the American Association of Oral Biologists* 12 (5), 399–413.
204. Serino, G., Rosling, B., Ramberg, P., Socransky, S. S. and Lindhe, J. (2001): Initial outcome and long-term effect of surgical and non-surgical treatment of advanced periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 28 (10), 910–916.

205. Seymour, G. J. and Taylor, J. J. (2004): Shouts and whispers: An introduction to immunoregulation in periodontal disease. *Periodontology 2000* 35, 9–13.
206. Sheets, S. M., Robles-Price, A. G., McKenzie, R. M. E., Casiano, C. A. and Fletcher, H. M. (2008): Gingipain-dependent interactions with the host are important for survival of *Porphyromonas gingivalis*. *Frontiers in Bioscience* 13, 3215–3238.
207. Shenker, B. J., Besack, D., McKay, T., Pankoski, L., Zekavat, A. and Demuth, D. R. (2005): Induction of cell cycle arrest in lymphocytes by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* cytolethal distending toxin requires three subunits for maximum activity. *Journal of Immunology* 174 (4), 2228–2234.
208. Shiloah, J. and Patters, M. R. (1994): DNA probe analyses of the survival of selected periodontal pathogens following scaling, root planing, and intra-pocket irrigation. *Journal of Periodontology* 65 (6), 568-575.
209. Shiloah, J. and Patters, M. R. (1996): Repopulation of periodontal pockets by microbial pathogens in the absence of supportive therapy. *Journal of Periodontology* 67 (2), 130–139.
210. Signat, B., Roques, C., Poulet, P. and Duffaut, D. (2011): *Fusobacterium nucleatum* in periodontal health and disease. *Current Issues in Molecular Biology* 13 (2), 25–36.
211. Singh, S., Uppoor, A. and Nayak, D. (2012): A comparative evaluation of the efficacy of manual, magnetostrictive and piezoelectric ultrasonic instruments- an in vitro profilometric and SEM study. *Journal of Applied Oral Science* 20 (1), 21–26.
212. Siqueira, J. F. JR and Rôças, I. N. (2004): Simultaneous detection of *Dialister pneumosintes* and *Filifactor alocis* in endodontic infections by 16S rDNA-directed multiplex PCR. *Journal of Endodontics* 30 (12), 851-4.
213. Siqueira, J. F. JR, Rôças, I. N., Paiva, S. S. M., Magalhaes, K. M. and Guimaraes-Pinto, T. (2007): Cultivable bacteria in infected root canals as identified by 16S rRNA gene sequencing. *Oral Microbiology and Immunology* 22 (4), 266–271.
214. Sixou, M. (2003): Diagnostic testing as a supportive measure of treatment strategy. *Oral Diseases* 9 (1), 54–62.
215. Slack, E., Hapfelmeier, S., Stecher, B., Velykoredko, Y., Stoel, M. and Lawson, M. A. E. et al. (2009): Innate and adaptive immunity cooperate flexibly to maintain host-microbiota mutualism. *Science* 325 (5940), 617–620.
216. Smith, M., Seymour, G. J. and Cullinan, M. P. (2010): Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontology 2000* 53, 45–54.
217. Socransky, S. S. and Haffajee, A. D. (2005): Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000* 38, 135–187.
218. Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C. and Kent, R. L. JR (1998): Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology* 25 (2), 134–144.

219. Socransky, S. S., Smith, C. and Haffajee, A. D. (2002): Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 29 (3), 260–268.
220. Spahr, A., Klein, E., Khuseyinova, N., Boeckh, C., Muche, R. and Kunze, M. et al. (2006): Periodontal infections and coronary heart disease: role of periodontal bacteria and importance of total pathogen burden in the coronary event and periodontal disease. *Archives of Internal Medicine* 166 (5), 554–559.
221. Spooner, R., Weigel, K. M., Harrison, P. L., Lee, K., Cangelosi, G. A. and Yilmaz, Ö. (2016): In situ anabolic activity of periodontal pathogens *Porphyromonas gingivalis* and *Filifactor alocis* in chronic periodontitis. *Scientific Reports* 6, 33638.
222. Stoltenberg, J. L., Osborn, J. B., Carlson, J. F., Hodges, J. S. and Michalowicz, B. S. (2007): A preliminary study of intra-pocket topical versus injected anaesthetic for scaling and root planing. *Journal of Clinical Periodontology* 34 (10), 892–896.
223. Surna, A., Sakalauskiene, J., Vitkauskiene, A. and Saferis, V. (2008): Microbiological and biochemical characteristics of inflammatory tissues in the periodontium. *Medicina* 44 (3), 201–210.
224. Suzuki, N., Yoshida, A. and Nakano, Y. (2005): Quantitative analysis of multi-species oral biofilms by TaqMan Real-Time PCR. *Clinical Medicine & Research* 3 (3), 176–185.
225. Sweet, D., Lorente, M., Valenzuela, A., Lorente, J. A. and Alvarez, J. C. (1996): Increasing DNA extraction yield from saliva stains with a modified Chelex method. *Forensic Science International* 83 (3), 167–177.
226. Swoboda, J. R., Kiyak, H. A., Darveau, R. and Persson, G. R. (2008): Correlates of periodontal decline and biologic markers in older adults. *Journal of Periodontology* 79 (10), 1920–1926.
227. Takada, K., Saito, M., Tsuzukibashi, O., Kawashima, Y., Ishida, S. and Hirasawa, M. (2010): Characterization of a new serotype g isolate of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Molecular Oral Microbiology* 25 (3), 200–206.
228. Takahashi, N., Sato, T. and Yamada, T. (2000): Metabolic pathways for cytotoxic end product formation from glutamate- and aspartate-containing peptides by *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Bacteriology* 182, 4704–4710.
229. Takamatsu, N., Yano, K., He, T., Umeda, M. and Ishikawa, I. (1999): Effect of initial periodontal therapy on the frequency of detecting *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal of Periodontology* 70 (6), 574–580.
230. Tan, K. S., Song, K. P. and Ong, G. (2002): Cytolethal distending toxin of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Occurrence and association with periodontal disease. *Journal of Periodontal Research* 37 (4), 268–272.
231. Tanaka, S., Yoshida, M., Murakami, Y., Ogiwara, T., Shoji, M. and Kobayashi, S. et al. (2008): The relationship of *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* and *Prevotella melaninogenica* in the supragingival plaque of

- children, caries and oral malodor. *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 32 (3), 195–200.
232. Ten Cate, J. M. and Zaura, E. (2012): The numerous microbial species in oral biofilms: how could antibacterial therapy be effective? *Advances in Dental Research* 24 (2), 108–111.
233. Thompson, S. A. (2002): *Campylobacter* surface-layers (S-layers) and immune evasion. *Annals of Periodontology* 7 (1), 43–53.
234. Tonetti, M. S., Eickholz, P., Loos, B. G., Papapanou, P., Van der Velden, U. and Armitage, G. et al. (2015): Principles in prevention of periodontal diseases: Consensus report of group 1 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *Journal of Clinical Periodontology* 42 (16), 5-11.
235. Torrungruang, K., Bandhaya, P., Likittanasombat, K. and Grittayaphong, C. (2009): Relationship between the presence of certain bacterial pathogens and periodontal status of urban Thai adults. *Journal of Periodontology* 80 (1), 122–129.
236. Trenter, S. C. and Walmsley, A. D. (2003): Ultrasonic dental scaler: associated hazards. *Journal of Clinical Periodontology* 30 (2), 95–101.
237. Troil-Lindén, B. von, Saarela, M., Mättö, J., Alaluusua, S., Jousimies-Somer, H. and Asikainen, S. (1996): Source of suspected periodontal pathogens re-emerging after periodontal treatment. *Journal of Clinical Periodontology* 23 (6), 601–607.
238. Tunkel, J., Heinecke, A. and Flemmig, T. (2002): A systematic review of efficacy of machine-driven and manual subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 29 (3), 72-81.
239. Vandenberg, N., Von Oorschot, R. A. H. and Mitchell, R. J. (1997): An evaluation of selected DNA extraction strategies for short tandem repeat typing. *Electrophoresis* 18, 1624-1626.
240. Van der Weijden, F. and Slot, D. E. (2011): Oral hygiene in the prevention of periodontal diseases: the evidence. *Periodontology 2000* 55 (1), 104-123.
241. Van der Weijden, G. A. and Timmerman, M. F. (2002): A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 29 (3), 55-71.
242. Van Dyke, T. E. and Sheilesh, D. (2005): Risk factors for periodontitis. *Journal of the International Academy of Periodontology* 7 (1), 3–7.
243. Van Winkelhoff, A. J. and Boutaga, K. (2005): Transmission of periodontal bacteria and models of infection. *Journal of Clinical Periodontology* 32 (6), 16–27.
244. Van Winkelhoff, A. J., Loos, B. G., Van der Reijden, W. A. and Van der Velden, U. (2002): *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *Journal of Clinical Periodontology* 29 (11), 1023-1028.

245. Veith, P. D., Dashper, S. G., O'Brien-Simpson, N. M., Paolini, R. A., Orth, R., Walsh, K. A. and Reynolds, E. C. (2009): Major proteins and antigens of *Treponema denticola*. *Biochimica et Biophysica Acta* 1794 (10), 1421–1432.
246. Venketaraman, V., Lin, A. K., Le, A., Kachlany, S. C., Connell, N. D. and Kaplan, J. B. (2008): Both leukotoxin and poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide protect *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* cells from macrophage killing. *Microbial Pathogenesis* 45 (3), 173–180.
247. Wadhvani, R. B., Chaudhary, M. S., Tharani, D. A. and Chandak, S. A. (2013): Effect of scaling and root planing on detection of *Tannerella forsythia* in chronic periodontitis. *Journal of Oral Diseases*, Article ID 383746, 6 pages.
248. Walsh, P. S., Metzger, D. A. and Higuchi, R. (1991): Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques* 10 (4), 506–513.
249. Wang, B., Kraig, E. and Kolodrubetz, D. (2000): Use of defined mutants to assess the role of the *Campylobacter rectus* S-layer in bacterium-epithelial cell interactions. *Infection and Immunity* 68 (3), 1465–1473.
250. Willich, S. N. (2006): Randomisierte kontrollierte Studien: Pragmatische Ansätze erforderlich. *Deutsches Ärzteblatt* 39, Deutscher Ärzte-Verlag Köln, A-2524 / B-2185 / C-2107.
251. Wolf, H. F., Rateitschak, E. M. and Rateitschak, K. H. (2004): Farbatlant der Zahnmedizin, Parodontologie. *Georg Thieme Verlag*, Stuttgart 3. Auflage.
252. Wu, Y., Yan, J., Chen, L. and Gu, Z. (2007): Association between infection of different strains of *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival plaque and clinical parameters in chronic periodontitis. *Journal of Zhejiang University* 8 (2), 121–131.
253. Ximenez-Fyvie, L. A., Haffajee, A. D. and Socransky, S. S. (2000a): Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 27 (9), 648–657.
254. Ximenez-Fyvie, L. A., Haffajee, A. D. and Socransky, S. S. (2000b): Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 27 (10), 722–732.
255. Yanagisawa, M., Kuriyama, T., Williams, D. W., Nakagawa, K. and Karasawa, T. (2006): Proteinase activity of prevotella species associated with oral purulent infection. *Current Microbiology* 52 (5), 375–378.
256. Yang, J.-L., Wang, M.-S., Cheng, A.-C., Pan, K.-C., Li, C.-F. and Deng, S.-X. (2008): A simple and rapid method for extracting bacterial DNA from intestinal microflora for ERIC-PCR detection. *World Journal of Gastroenterology* 14 (18), 2872–2876.
257. Yilmaz, O., Young, P. A., Lamont, R. J. and Kenny, G. E. (2003): Gingival epithelial cell signalling and cytoskeletal responses to *Porphyromonas gingivalis* invasion. *Microbiology* 149 (9), 2417–2426.
258. Zhou, Q., Desta, T., Fenton, M., Graves, D. T. and Amar, S. (2005): Cytokine profiling of macrophages exposed to *Porphyromonas gingivalis*, its lipopolysaccharide, or its FimA protein. *Infection and Immunity* 73 (2), 935–943.

259. Zilm, P. S., Bagley, C. J., Rogers, A. H., Milne, I. R. and Gully, N. J. (2007): The proteomic profile of *Fusobacterium nucleatum* is regulated by growth pH. *Microbiology* 153 (1), 148–159.

Schriftliche Einverständniserklärung des Patienten/der Patientin zur Teilnahme an einer klinischen Studie

- Bitte lesen Sie dieses Formular sorgfältig durch.
- Bitte fragen Sie, wenn Sie etwas nicht verstehen oder wissen möchten

Nummer der Studie:	
Titel der Studie:	Vergleich des Therapieerfolgs nach Parodontalem Debridement bei Patienten mit moderater bis schwerer chronischer Parodontitis
Ort der Studie:	ZÄ Karolin Vollroth in der Zahnarztpraxis Dr. Gäßner, Zur Schule 2, 04158 Leipzig für den Leiter des Funktionsbereiches Parodontologie der Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie des Universitätsklinikums Leipzig AöR, Prof. Dr. Dr. h.c. H. Jentsch
Prüfärztin/Prüfarzt Name und Vorname:	ZÄ Karolin Vollroth
Patientin/Patient Name und Vorname:	
Geburtsdatum:	<input type="checkbox"/> männlich <input type="checkbox"/> weiblich

- Ich wurde vom unterzeichnenden Arzt mündlich und schriftlich über die Ziele, den Ablauf der Studie zur Bestimmung von prognostischen Markern bei Parodontitis informiert.
- Ich habe die zur oben genannten Studie abgegebene schriftliche Patienteninformation (Version 2.0) vom 5.3.2012 gelesen und verstanden. Meine Fragen im Zusammenhang mit der Teilnahme an dieser Studie sind mir zufriedenstellend beantwortet worden. Ich kann die schriftliche Patienteninformation behalten und erhalte eine Kopie meiner schriftlichen Einverständniserklärung.
- Ich wurde über mögliche andere Behandlungen und Behandlungsverfahren aufgeklärt.
- Ich hatte genügend Zeit, um meine Entscheidung zu treffen.
- Ich weiss, dass meine persönlichen Daten nur in anonymisierter Form an aussenstehende Institutionen zu Forschungszwecken weitergegeben werden. Ich bin einverstanden, dass die zuständigen Fachleute des Studienauftraggebers, der Behörden und der Kantonalen Ethikkommission zu Prüf- und Kontroll-zwecken in meine Originaldaten Einsicht nehmen dürfen, jedoch unter strikter Einhaltung der Vertraulichkeit.
- Ich nehme an dieser Studie freiwillig teil. Ich kann jederzeit und ohne Angabe von Gründen meine Zustimmung zur Teilnahme widerrufen, ohne dass mir deswegen Nachteile bei der weiteren medizinischen Betreuung entstehen. In diesem Fall werde ich zu meiner Sicherheit abschliessend medizinisch untersucht.
- Ich bin mir bewusst, dass während der Studie die in der Patienteninformation genannten Anforderungen und Einschränkungen einzuhalten sind. Im Interesse meiner Gesundheit kann mich der Prüfarzt jederzeit von der Studie ausschliessen. Zudem orientiere ich den Prüfarzt über die gleichzeitige Behandlung bei einem anderen Arzt sowie über die Einnahme von Medikamenten (vom Arzt verordnete oder selbständig gekaufte).

Ort, Datum	Unterschrift der Patientin/des Patienten
------------	--

Bestätigung des Prüfarztes: Hiermit bestätige ich, dass ich diesem Patienten/dieser Patientin Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie erläutert habe. Ich versichere, alle im Zusammenhang mit dieser Studie stehenden Verpflichtungen zu erfüllen. Sollte ich zu irgendeinem Zeitpunkt während der Durchführung der Studie von Aspekten erfahren, welche die Bereitschaft des Patienten/der Patientin zur Teilnahme an der Studie beeinflussen könnten, werde ich ihn/sie umgehend darüber informieren.

Ort, Datum	Unterschrift der Prüfärztin/des Prüfarztes
------------	--

9 Erklärung über die eigenständige Abfassung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar eine Vergütung oder geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Die aktuellen gesetzlichen Vorgaben in Bezug auf die Zulassung der klinischen Studien, die Bestimmungen des Tierschutzgesetzes, die Bestimmungen des Gentechnikgesetzes und die allgemeinen Datenschutzbestimmungen wurden eingehalten. Ich versichere, dass ich die Regelungen der Satzung der Universität Leipzig zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis kenne und eingehalten habe.

.....
Datum

.....
Unterschrift

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Vollroth
Vorname: Karolin
Adresse: Olbrichtstraße 4f, 04157 Leipzig
E-Mail: Karolin-vollroth@web.de
Geburtstag: 25.09.1985
Geburtsort: Sondershausen
Familienstand: ledig
Kinder: 1 Tochter

Schulischer Werdegang

08/1992 - 08/1996 Grundschule Rottleben
08/1996 - 06/2004 Geschwister Scholl Gymnasium
Sondershausen

Studium

04/2005 - 06/2010 Studium der Zahnmedizin an der Philipps-Universität
Marburg/ Lahn
2006 Naturwissenschaftliche Vorprüfung
2008 Zahnärztliche Vorprüfung
2010 Staatsexamen
06/2010 Approbation als Zahnärztin

Beruflicher Werdegang

09/2010 - 11/2011 Vorbereitungsassistentin ZAP Dr. Christine Leidhold
12/2011 - 12/2013 Vorbereitungs- und Entlastungsassistentin ZAP
Dr. Susann Dehne/ Dipl. Med. Ursula Möller
01/2014 Angestellte Zahnärztin ZAP Dr. Sebastian Gäßner

Leipzig, im September 2018

11 Publikationen

Wissenschaftliche Publikationen

„Persistence of *Porphyromonas gingivalis* is a negative predictor in patients with moderate to severe periodontitis after non-surgical periodontal therapy”

12 Danksagung

Für die freundliche Überlassung dieser Studie, die umfassende fachliche Betreuung, sowie den zügigen Probentransfer möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Holger Jentsch ganz herzlich danken.

Weiterhin bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. Sigrun Eick für die freundliche Unterstützung bei der Untersuchung der mikrobiologischen Proben und den kritischen Anmerkungen bei der Umsetzung dieser Arbeit.

Herrn Biomed.-Ing. Walter Bürgin von der Universität Bern danke ich für die umfassende statistische Auswertung.

Den Mitarbeitern des Labors für Orale Mikrobiologie der Zahnmedizinischen Kliniken der Universität Bern danke ich für die Hilfsbereitschaft während der gesamten Versuchsreihe sowie für die schnelle Auswertung der Proben.

Allen Patienten danke ich für ihre Zuverlässigkeit und die Bereitschaft zur Teilnahme an dieser Arbeit.

An dieser Stelle möchte ich auch meinem Freund und Motivator Sebastian danken, der mich in all meinen Vorhaben, so auch bei der Umsetzung dieser Arbeit, außerordentlich unterstützt. Weiterhin danke ich meinen lieben Eltern sowie meinem Bruder und Familie, die mir diesen Weg ermöglicht haben und die Durchführung der Studie mit großem Interesse verfolgten.