

Ihr Ansprechpartner: Dr. K. TheiB, Tel.: 06841-64001
Fax: 06841-64002



MVZ Laborzentrum Ettlingen GmbH

Otto-Hahn-StraÙe 18, 76275 Ettlingen
Tel. 07243 516 - 01 Fax 07243 516 - 366

E-Mail: info@laborzentrum.org
www.laborzentrum.org

Ausg. 2010

MVZ LABORZENTRUM ETTLINGEN GMBH

Otto-Hahn-StraÙe 18 • 76275 Ettlingen

INFO für Zahnärzte

PARODONTITIS

**Erregernachweis
molekularbiologisch (PCR)**



Parodontitis ist eine Erkrankung, die unbehandelt zum Zahnverlust führen kann und deren Gefahren und Auswirkungen für die Gesamtgesundheit erheblich unterschätzt werden. Vor allem im Zusammenhang mit Herz-Kreislauf-Erkrankungen ist die Parodontitis ein bisher zu wenig beachteter Risikofaktor.

Dabei kann die **Erkrankung**, wenn sie früh genug erkannt wird, **durch präventive Maßnahmen verhindert** werden und ist durch eine entsprechende **Parodontitistherapie** mit anschließender lückenloser Prophylaxe auch **heilbar**.

Unser Service für Sie

- **Medizinische Labordiagnostik**
Parodontitis-Erregernachweis,
molekularbiologisch (PCR)
- **Praxishygiene/Qualitätssicherung**
mikrobiologische Funktionsprüfung
 - Sterilisator/ Instrumentenspülmaschine
 - Wasser aus Dentaleinheiten
- **Bereitstellung**
von Probeentnahmesysteme / Proben-
transportmaterialien
- **Beratungsservice**
Labormedizin / Praxishygiene

Bereitstellung auf Anfrage vom Labor:

Probenahmesysteme / Probentransportmaterialien:

- Transportgefäß für Papierspitzen (Parod.-Erreger-Diagn)
- Papierspitzen „Set“ = 5x Papierspitzen
- Freiumschlag für Parodontitis-Proben
- Bioindikatoren „Set“ Sterilisator = 5x Bioindikatoren
- Bioindikatoren „Set“ Instr.-Spülmaschine = 5x Bioindikatoren

Quellen:

- [1] FLEMMIG, T. H., KARCH, H.: Adjuvante Antibiotika bei der Therapie marginaler Parodontopathien. Gemeinsame Stellungnahme DGP und DGZMK. Dtsch Zahnärztl Z 53, 824 (1998).
- [2] Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift (dzz) 58 (2003) 5: Gemeinsame Stellungnahme der Dt. Ges. f. Parodontologie (DGP) und der Dt. Ges. für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten (DGZMK)
- [3] VAN WINKELHOFF, A. J., et.al.: b-lactamase producing bacteria in adult periodontitis. J Clin Periodontol 24, 538 (1997): Kombination Amoxicillin/Clavulansäure (Augmentan) inhibiert bakteriellen Beta-Lactamasen (insbes.: Prevotella intermedia, Prevotella denticola, Fusobacterium nucleatum und Tannerella forsythensis).
- [4] Journal of Clinical Periodontology, Volume 26 Issue 4 Page 261-263, April 1999
- [5] Prof. Flemming, Prof. Karch, Univ. Würzburg: BZB, Heft 11/97, S. 22-25
- [6] DAHZ-Hygiene-leitfaden, 7: Ausgabe 2006
- [7] RKI-Richtlinie: Infektionsprävention in der Zahnheilkunde - Anforderungen an die Hygiene. Feststellung der Qualität des Wassers in einer Dentaleinheit (Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch- Gesundheitsschutz 2006, 49: 375- 394)
- [8] Zahnärztliche Mitteilung 1.4.2008, Mikrobiologische Diagnostik in der Parodontitistherapie, Gemeinsame Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie (DGP) und der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten (DGZMK)

Indikationen für die mikrobiologische Diagnostik

Der Nachweis parodontopathogener Keime hat in Kombination mit Anamnese und klinischen Befunden eine therapeutische Konsequenz.

Die mikrobiologische Diagnostik trägt daher wesentlich zur Auswahl einer auf die vorliegende Infektion ausgerichteten adjuvanten systemischen Antibiotikatherapie bei. Eine mikrobiologische Analyse der subgingivalen Plaque ist nach den heutigen Erkenntnissen im Allgemeinen bei Parodontitiden indiziert, bei denen die Indikation zur **systemischen adjuvanten Antibiotikatherapie** gegeben ist.

Hierzu zählen folgende Erkrankungen:

- aggressive Parodontitis
- schwere chronische Parodontitis
- Parodontitiden, die trotz vorangegangener Therapie progrediente Attachmentverluste aufweisen
- mittelschwere bis schwere Parodontitiden bei systemischen Erkrankungen oder Zuständen die die Funktion des Immunsystems beeinträchtigen.



Zeitpunkt der mikrobiologischen Diagnostik

Die mikrobiologische Diagnostik sollte **vor Beginn der Therapie** durchgeführt werden, damit das Ergebnis der mikrobiologischen Diagnostik zum Abschluss des sub- und supragingivalen Debridements (Initialtherapie) vorliegt und eine auf die intraorale Kolonisation mit parodontopathogenen Keimen ausgerichtete adjuvante Antibiotikaauswahl direkt nach Abschluss des supra- und subgingivalen Debridements ermöglicht wird. Entscheidend für die Auswahl von systemischen Antibiotika ist nicht die Quantität eines parodontopathogenen Erregers, sondern der qualitative intraorale Nachweis innerhalb der Mundhöhle.

Nachweis von Markerkeimen

Die in **unserem Labor** durchgeführte **Parodontitis-PCR** (Parodonto-pathogener Markerkeimnachweis mittels Polymerase-Ketten-reaktion / Polymerase Chain Reaction) weist die Parodontitis-Erreger **direkt** über sog. „**Housekeeping-Gene**“ nach, die **nur diese Bakterien besitzen**. Damit **entfallen Verwechslungen** mit ähnlichen apathogenen Stämmen der Begleitflora, wie es bei anderen Tests oft vorkommen kann.

Für die Analyse sollten **subgingivale Plaqueproben** der jeweils **tieftsten parodontalen Taschen** verwendet werden.

Eine individuell abgestimmte Parodontistherapie wird sich an den Faktoren orientieren, die für die Entstehung und den Verlauf der Erkrankung von maßgeblicher Bedeutung sind. In den allermeisten Fällen stellt die Infektion des Zahnfleisches mit sogenannten „**Markerkeimen**“ die Hauptursache dar; insbesondere die Markerbakterien:

Aa	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
Fn	Fusobacterium nucleatum
Mm	Micromonas micros
Pg	Porphyromonas gingivalis
Pi	Prevotella intermedia
Tf	Tannerella forsythia
Td	Treponema denticola

Zur mikrobiologischen Diagnostik werden möglichst repräsentative Proben der supra- und subgingivalen Plaqueflora von erkrankten Parodontien benötigt. Je mehr Proben pro Patient für die mikrobiologische Analyse gesammelt werden, um so repräsentativer ist das Ergebnis für die pathogene intraorale Mikroflora. Für die klinische Routinediagnostik bietet hierfür die **Entnahme supra- und subgingivaler Plaqueproben** von der jeweils tiefsten parodontalen Tasche in jedem Sextanten bei einfacher Durchführung eine hohe Sensitivität.

Prüfung Instrumentenspülmaschine

Bioindikatoren:

Sie erhalten **5x Edelstahlplättchen** zusammen mit **5x Leerröhrchen** (pro Spülmaschine) vom Labor.



1. **4x Edelstahlplättchen** einzeln, nacheinander aseptisch mit steriler Pinzette aus den Röhrchen entnehmen und diese nacheinander je an 4 verschiedenen auseinander liegenden Stellen in der Spülmaschine platzieren (wenn möglich Öse einhängen).
2. Das **5. Edelstahlplättchen** (im **zweiten Röhrchen**) dient als **Transportkontrolle**: Dieses Röhrchen bitte mit "**Kontrolle**" beschriften. Dieses Edelstahlplättchen im Röhrchen belassen und **nicht** mit in den Sterilisator geben, sondern später zusammen mit den getesteten Edelstahlplättchen zum Labor schicken !
2. **Sterilisierprozess durchführen.**
3. Die **4x Edelstahlplättchen** einzeln aseptisch mit **steriler** Pinzette aus der Spülmaschine entnehmen und jeweils in eines der Leerröhrchen geben und dieses fest verschließen. Diese Röhrchen dann zusammen mit der Transportkontrolle ("Kontrolle") sowie dem ausgefüllten Untersuchungsauftrag ins Kuvert geben.
4. Bei Raumtemperatur lagern bis Postversand.

Mikrobiologische Funktionsprüfung Sterilisator / Instrumentenspülmaschine

Prüfung Sterilisator

Bioindikatoren:

Sie erhalten **5x Sporenstreifen** (pro Sterilisator) vom Labor.



1. **4x Sporenstreifen** im Sterilisator an verschiedenen auseinander liegenden Stellen platzieren → dabei die Papierhülle der Sporenstreifen **nicht aufreißen!**
2. **Jeweils 1x Sporenstreifen** dient als **Transportkontrolle**: Diesen bitte mit "**Kontrolle**" beschriften und **nicht** mit in den Sterilisator geben, sondern später zusammen mit den getesteten Streifen zum Labor schicken !
3. **Sterilisierprozess durchführen.**
4. **4x Sporenstreifen** aus Sterilisator entnehmen und zusammen mit der Transportkontrolle ("Kontrolle") sowie dem ausgefüllten Untersuchungsauftrag ins Kuvert geben.
5. Bei Raumtemperatur lagern bis Postversand.



Laboruntersuchung

Zur mikrobiologischen Analyse der parodontalen Infektion stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung, die sich in ihrer Aussagekraft sowie im personellen, instrumentellen und materiellen Aufwand unterscheiden. Allerdings haben sich für den Routineeinsatz in den letzten Jahren **molekularbiologische Nachweisverfahren** durchgesetzt. Bei diesen Tests werden nicht die lebenden Bakterien selbst, sondern deren **Nukleinsäuren spezifisch nachgewiesen**. Die Probenentnahme erfolgt in der Zahnarztpraxis, die Auswertung übernimmt unser qualifiziertes Labor.

► Mikrobiologische Analysen

Es sollten mikrobiologische Verfahren mit möglichst hohen positiven und negativen Vorhersagewerten verwendet werden.

- #### ► Molekularbiologische Verfahren (PCR) haben hohe Vorhersagewerte
- und können potenzielle Virulenz- und Resistenzgene bei parodontopathogenen Bakterien identifizieren.

Der Erregernachweis per **Kultivierung** ist wesentlich aufwendiger und **ohne** hohe Vorhersagewerte. Nicht anzüchtbare oder auf dem Transportweg abgestorbene Keime **entgehen der Analyse mittels Kultivierung**.

Testvarianten:

Screening-Verfahren = Poolprobe	Probeentnahme
<ul style="list-style-type: none"> - allgem. Nachweis parodontopathogener Keime - Therapie-Erfolgskontrolle 	bis zu 5 Papierspitzen aus verschiedenen Parodontaltaschen entnehmen und zusammen in 1 Transportröhrchen poolen.
Einzelanalyse	Probeentnahme
<ul style="list-style-type: none"> - Bestimmung der Keimbelastung definierter Zahnfleischtaschen - Therapie-Erfolgskontrolle 	Sulkus mit je 1x Papierspitze; anschl. jede Papierspitze getrennt in je 1x Transportröhrchen geben.

Probeentnahme

Vor der Probenentnahme zunächst die supragingivale Plaque entfernen (sterile Kürette) und Entnahmeort trockenlegen.

Durchführung der Probengewinnung

1. Probenentnahme grundsätzlich **vor** mechanischer Reinigung der Tasche (Probenentnahme aus hoch akuten Taschen mit Pusentleerung möglichst vermeiden).
2. Pro definierter Stelle die Papierspitze(n) nacheinander je mit steriler Pinzette bis zum Sulkusgrund einführen, 10 Sekunden am Entnahmeort belassen.
3. Papierspitze(n) in Transportröhrchen geben.
4. Röhrchen beschriften (Nummer).
5. Entnahmestelle + zugehörige Röhrchen-Nr. auf dem Anforderungsbogen vermerken.



Probentransport



- Die Proben zusammen mit dem ausgefüllten Auftragsformular im **Freiumschlag** möglichst am gleichen Tag per Postversand an das Labor verschicken.
 - Bei Proben-Lagerung länger als 1 Tag, im Kühlschrank lagern.
- Transport über das Wochenende wenn möglich vermeiden.

Die **Befundung** erfolgt am gleichen Tag bzw. Folgetag nach Probeneingang.

Wasser-Hygiene / Infektionsprävention

Untersuchung wasserführender Systeme in Dentaleinheiten zum Ausschluss potentieller pathogener Keime.



Rechtliche Anforderungen

- Wasser, das in Dentaleinheiten eingespeist wird, muss den Anforderungen der Trinkwasserverordnung TrinkwV 2001 entsprechen, d.h. es muss frei sein von Krankheitserregern.
- Die Zuständigkeit der TrinkwV endet an der Übergabestelle des Trinkwassers in die Dentaleinheit.
- Alle hygienischen Anforderungen der Dentaleinheit liegen ab hier in der Verantwortung des Zahnarztes ^[6].

Untersuchungsbereich Wasser, Entnahmestellen

- Hausinstallation Trinkwasser in der Zahnarztpraxis vor Einspeisung in Dentaleinheit (repräsent. Entnahmestelle: z.B. Wasserhahn Waschbecken)
- Die Dentaleinheit mit den entsprechenden wasserführenden Systemen (repräsent. Entnahmestelle: z.B. Schlauch distal, nach Abschrauben Bohrkopf)
- Wasseraufbereitungsanlagen (Zapfhahn nach Aufbereitungsanlage)

Untersuchungsfrequenz

jährlich eine Entnahmestelle nach RKI-Richtlinien ^[7]

Probenahmen: Rücksprache mit dem Labor.

Mikrobiologie der parodontalen Erkrankung

MANDELL und SOCRANSKY 1981, SLOTS et al. 1980
HAFFAJEE und SOCRANSKY 1994, SOCRANSKY und HAFFAJEE 1997

Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Haupt-Parodontitiserreger, hoch signifikant für die klinische Progression der (lokalisierten) aggressiven bzw. auch refraktären Parodontitis.
Gewebeadhäsion, Gewebeinvasion, Leukotoxin (lysiert Leukozyten, Granulozyten), Superantigen (T-Zell-Apoptosis), Chemotaxis-Inhibitionsfaktor, Lymphozytensuppressor, Resistenzfaktor gegenüber komplementvermittelter Lyse, Katalase, LPS, Säuren, alkalische Phosphatase, Knochenabbau-Induktionsfaktor, Kollagenase, Fibroblasten-Inhibitionsfaktor und Epitheliotoxin

Fusobacterium nucleatum

pot. bedeutsame Rolle bei nekrotisierender ulzerierender Parodontitis und Gingivitis Schleimhaut-Frühbesiedler (Andockstelle für Sekundärbesiedler)

Micromonas micros

pot. parodontopathogen, starke Proteaseaktivität (Schädigung Parodont)

Porphyromonas gingivalis

Haupt-Parodontitiserreger, verschiedene Proteasen (Kollagen-, Antikörper-Abbau)

Prevotella intermedia

früher Markerkeim, verschiedenen Formen der Parodontitis, sowie akut nekrotisierende ulzerierende Gingivitis, Halitosis (flüchtigen Fettsäuren)

Tannerella forsythia

parodontopathogen, hoch signifikant für die klinische Progression der PAR, hohe Protease-Aktivität, Foetor ex ore (flüchtigen Fettsäuren)

Treponema denticola

parodontopathogener Spirochät, Protease-Bildner, Halitosis (flüchtigen Fettsäuren)

Vorteile der Methode

- Der Gentest ist die **sensitivste Methode** zum Nachweis der **Parodontitis-Markerkeime**:
im Gegensatz zur zeitaufwendigen Kultivierung von Bakterien erfolgt beim Gensondentest der direkte DNA-Nachweis der Markerbakterien.
- Unser Test ermöglicht eine **semiquantitative Bewertung** (Höhe der Keimbelastung) in Verbindung mit der Beurteilung der **fak. Pathogenität** nachgewiesener Erreger.
- Der Gentest erfasst zuverlässig anaerobe Erreger (tiefe Zahnfleischtaschen), die mittels Bakterienkultur oft nicht nachgewiesen werden können.
- Der Labor-Befund ist innerhalb von **6 Stunden** nach Probeneingang abgeschlossen.
- Die Proben-Versandbedingungen sind unkritisch (DNA-Nachweis), sodass der Transport problemlos per Post erfolgen kann.
- Die Durchführung dieses Tests ist für den Patienten schmerzfrei.



Befriedigende, **längerfristige Therapieerfolge** sind nur durch die Kombination aus **gezielter Antibiotikatherapie** und **Entfernung der Zahnplaque** zu erreichen. Die mikrobiologische Diagnostik wird zur Bestimmung der relevanten Erregerart und der Keimzahl durchgeführt. Erstere dient der Wahl des optimalen Antibiotikums, letztere der Erfolgskontrolle.

Mögliche Antibiotika-Dosierungen zur unterstützenden Therapie marginaler Parodontitiden

[Literaturquellen ^{1 2 3}]

Wirkstoff	Indikation (systemisch) bei Keimnachweis von:	Dosierung Erwachsene (systemische Anwendung)
Amoxicillin	Aa	3 x 500 mg/d (14 Tage)
Amoxicillin / Clavulansäure (z.B. Augmentan)	Pg, Tf, Td, Pi, Mm, Fn und nicht Aa alternativ zu Clindamycin, stabil gegen β -Laktamasen	3 x 375 mg/d (10 Tage)
Metronidazol	Pg, Tf, Td, Pi, Fn, (Mm [a]) und nicht Aa	3 x 400 mg/d (7 Tage)
Metronidazol + Amoxicillin / (Clavulansäure) ^[3]	Mischinfektion mit Aa und obligaten Anaerobiern [Pg, Tf, Td, Pi, Mm, Fn]	3 x 500 mg/d (Amoxicillin) 3 x 400 mg/d (Metronid.) (8 Tage)
Clindamycin [b]	Pg, Tf, Td, Pi, Mm, Fn und nicht Aa	4 x 300 mg/d (7 Tage)
Ciprofloxacin [b]	Als Ersatz für Amoxicillin bei Penicillin-Unverträglichkeit	2 x 250 mg/d (10 Tage)
Metronidazol + Ciprofloxacin [b]	Mischinfektion mit Aa und obligaten Anaerobiern (Pi, Pg, Tf, Td u.a.) bei Penicillin-Unverträglichkeit	2 x 500 mg/d 2 x 500 mg/d (je 8 Tage)
Doxycyclin [b]	Aa, (fragliche Wirkung gegen Pg, Tf, Td, Pi, Mm, Fn)	1 x 200 mg/d (1. Tag) 1 x 100 mg/d (18 Tage)

[a]: z.T. Metronidazol-resistent ^[4]

[b]: nur bei Unverträglichkeit der Alternativ-Antibiotika verabreichen

Bakteriennamen (Abkürzung):

Aa: Aggregatibacter actinomycetemcomitans (1)

Fn: Fusobacterium nucleatum

Mm: Micromonas micros (2)

Pg: Porphyromonas gingivalis

Pi: Prevotella intermedia

Td: Treponema denticola

Tf: Tannerella forsythia (3)

(1) früher: Actinobacillus actinomycetemcomitans

(2) früher: Peptostreptococcus micros

(3) früher: Bacteroides forsythus

Adjuvante Antibiotika in der Parodontitistherapie

Auswahl des geeigneten Antibiotikums zur systemischen Applikation entsprechend:

- der mikrobiologischen Analyse (Keimspektrum)
- Wirkstoffkonzentrationen im Gingivalsulkus → Tabelle

Antibiotikakonzentrationen in der Gingivalflüssigkeit bei systemischer Verabreichung ^[2]

	Aa	Tf	Pg	Pi
Amoxicillin	+	+	++	
Metronidazol		++	+	
Metronidazol & Amoxicillin	+	++	++	+
Metronidazol & Ciprofloxacin	+	++	+	+
Clindamycin		++		
Ciprofloxacin	+			
Doxycyclin		+		

Vielfaches der in vitro minimalen Hemmkonzentration (MHK90):

+ = 10-fach, ++ = 100-fach



Stärke der Assoziation parodontopathogener Bakterien mit marginalen Parodontitiden

(modifiziert nach Haffajee und Socransky 1994 und Darveau et al. 1997)

[Literaturquelle ⁵]

sehr hoch	hoch	mittel
Aggregatibacter actinomycetemcomitans	Prevotella intermedia	Micromonas micros
Porphyromonas gingivalis	Treponema denticola	Fusobacterium nucleatum
Tannerella forsythia		