

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Poliklinik für Parodontologie  
-Direktor: Univ.- Prof. Dr. med. dent. Th. F. Flemmig-

---

**Serumantikörperreaktivitäten gegen Membranproteine  
von *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*  
und *Tannerella forsythensis* bei Patienten mit  
chronischer Parodontitis**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae dentium  
der Medizinischen Fakultät der  
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Alexandra Ordelleide, geb. Bonse  
aus Münster

**2006**

Gedruckt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der  
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. H. Jürgens  
1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Dr. Thomas Beikler  
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Helge Karch  
Tag der mündlichen Prüfung: 11.01.2006

**Aus dem Universitätsklinikum Münster**  
**Poliklinik für Parodontologie**  
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Th. F. Flemmig-  
Referent: Priv.-Doz. Dr. Dr. Th. Beikler  
Korreferent: Prof. Dr. H. Karch

## **Zusammenfassung**

### **Serumantikörperreaktivitäten gegen Membranproteine von *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* und *Tannerella forsythensis* bei Patienten mit chronischer Parodontitis**

Alexandra Ordelheide

Die Parodontitis ist eine chronische polymikrobielle Biofilminfektion, die sich durch den parodontalen Attachmentverlust von einer Gingivitis unterscheidet. Von den über 500 nachgewiesenen Spezies in der Mundhöhle sind nur wenige Bakterien parodontitisassoziiert, zu denen *Tannerella forsythensis* (*T.f.*), *Prevotella intermedia* (*P.i.*) und *Prevotella nigrescens* (*P.n.*) zählen. Im Verlauf dieser bakteriellen Kolonisation werden gegen diese Mikroorganismen hochspezifische Antikörper gebildet. Ziel dieser Studie war es, bei 35 Patienten mit chronischer Parodontitis mit Hilfe des Immunoblot (Western Blot Analyse) zu untersuchen, gegen welche antigenen Determinanten der Membranproteine von *P.i.* (ATCC 25611), *P.n.* (ATCC 33563) und *T.f.* (ATCC 43637) die Serumimmunglobuline IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub> gerichtet sind, ob eine Korrelation zwischen den Antikörperreaktivitäten und den klinischen Parametern wie Taschensondierungstiefen (TST) und Blutung auf Sondierung (BAS) besteht und Unterschiede zwischen Therapiebeginn (Phase I), und sechs Monate nach erfolgtem supra- und subgingivalem Debridement (Phase IV) zu verzeichnen sind. Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, dass für *P.i.* ein Hauptantigen bei ca. 79-kDa, für *P.n.* bei ca. 47-kDa und für *T.f.* bei 58-kDa und 68-kDa jeweils in der Phase I und Phase IV besteht. Jedoch konnte beim Vergleich der Phase I mit der Phase IV keine Korrelation zwischen der Antikörperreaktivität, der Infektion und der Progredienz der Taschensondierungstiefen oder Blutung auf Sondierung festgestellt werden. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die immundominanten Hauptantigene der Keime strukturell und funktionell zu charakterisieren.

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
1.1	Epidemiologie der Parodontitiden .....	1
1.2	Ätiologie und Pathogenese .....	2
1.2.1	Chronische Biofilminfektion .....	2
1.2.2	Erregerassoziierte Aspekte .....	2
1.2.3	<i>Prevotella intermedia</i> .....	3
1.2.4	<i>Prevotella nigrescens</i> .....	7
1.2.5	<i>Tannerella forsythensis</i> .....	8
1.2.6	Wirtsassoziierte Aspekte.....	9
2	Problemstellung .....	11
3	Material und Methoden.....	12
3.1	Studienkollektiv .....	12
3.1.1	Rekrutierung und Selektion der Probanden .....	12
3.1.2	Klinische Diagnostik.....	12
3.1.3	Therapie.....	13
3.1.4	Probensammlung.....	13
3.2	Mikrobiologische Analyse / Nachweis von <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Prevotella nigrescens</i> und <i>Tannerella forsythensis</i> .....	14
3.3	Immunologische Analyse .....	15
3.3.1	Kultivierung von <i>Prevotella intermedia</i> (ATCC 25611), <i>Prevotella nigrescens</i> (ATCC 33563) und <i>Tannerella forsythensis</i> (ATCC 43037).....	15
3.3.2	Isolierung der äußeren Membranproteine von <i>Prevotella intermedia</i> (ATCC 25611), <i>Prevotella nigrescens</i> (ATCC 33563) und <i>Tannerella forsythensis</i> (ATCC 43037).....	16
3.3.3	Immunoblotanalyse.....	17

---

3.3.4	Identifikation der gegen äußere Membranproteine von <i>Prevotella intermedia</i> (ATCC 25611), <i>Prevotella nigrescens</i> (ATCC 33563) und <i>Tannerella forsythensis</i> (ATCC 43037) gerichteten Antikörperreaktivitäten.....	17
3.4	Statistik .....	21
4	Ergebnisse .....	22
4.1	Demografie und klinische Parameter des Patientenkollektivs .....	22
4.2	Mikrobiologische Ergebnisse.....	23
4.2.1	Dynamik der intraoralen und subgingivalen Kolonisation mit <i>Prevotella intermedia</i> während der Phase I und IV .....	23
4.2.2	Dynamik der intraoralen und subgingivalen Kolonisation mit <i>Prevotella nigrescens</i> während der Phase I und IV.....	24
4.2.3	Dynamik der intraoralen und subgingivalen Kolonisation mit <i>Tannerella forsythensis</i> während der Phase I und IV .....	26
4.3	Immunologische Ergebnisse .....	28
4.3.1	<i>Prevotella intermedia</i> .....	28
4.3.2	<i>Prevotella nigrescens</i> .....	52
4.3.3	<i>Tannerella forsythensis</i> .....	57
4.4	Einfluss der gegen <i>Prevotella intermedia</i> (ATCC 25611), <i>Prevotella nigrescens</i> (ATCC 33563) und <i>Tannerella forsythensis</i> (ATCC 43037) gerichteten IgA, IgA <sub>1</sub> , IgA <sub>2</sub> , IgG, IgG <sub>1</sub> , IgG <sub>2</sub> , IgG <sub>3</sub> und IgG <sub>4</sub> -Antikörperreaktivitäten auf die Progredienz parodontaler Attachmentverluste.....	62
5	Diskussion .....	63
6	Literaturverzeichnis .....	69
7	Anhang.....	I
7.1	Lebenslauf .....	I
7.2	Danksagung.....	II

---

## 1 Einleitung

### 1.1 Epidemiologie der Parodontitiden

Die Parodontitis ist eine sehr weit verbreitete Infektionskrankheit, die unbehandelt zu einem langsam fortschreitenden Verlust des parodontalen Attachments (0,1-0,3 mm/Jahr) führt (10). Der Parodontitis geht immer eine Gingivitis voraus, aber nicht jede Gingivitis geht in eine Parodontitis über (6). Schwere Formen der Parodontitis kommen in weniger als 10% der Fälle vor (9,63,111). Bei Jugendlichen wurde eine hohe Gingivitisprävalenz von 80% festgestellt, die in der Folge rasch abnahm. Gleichzeitig stieg der Anteil an Personen ab dem 20. Lebensjahr mit Parodontitis steil an, und erreichte ab dem 35. Lebensjahr fast 100% (67) Ab dem 40. Lebensjahr nahm der Anteil an Personen mit Zahnverlust aufgrund der Parodontitis linear zu (Abb. 1), vor dem 40. Lebensjahr war die Karies die Hauptursache für Zahnverlust (54,70).

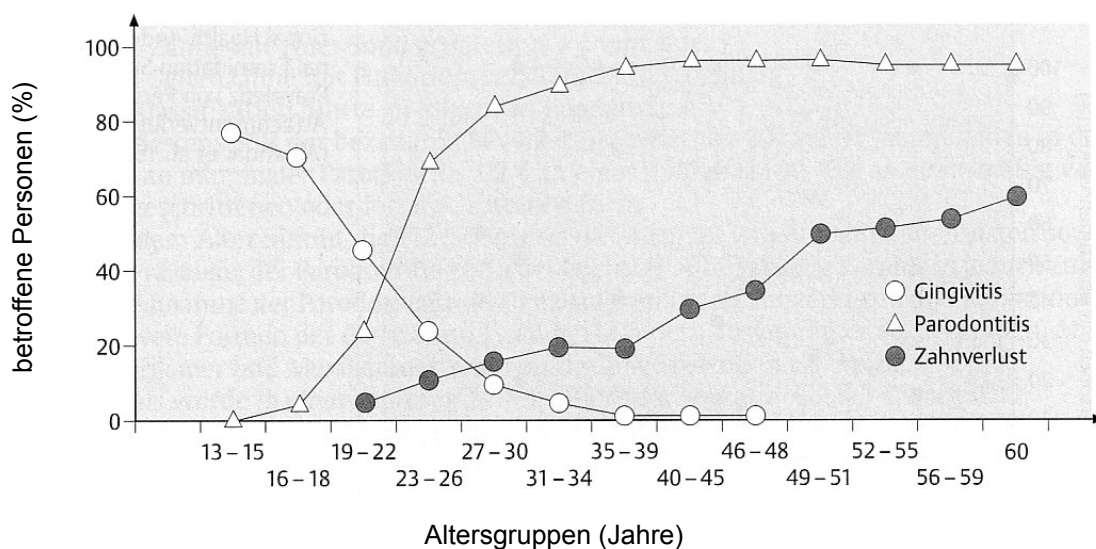


Abb.1 Prävalenz von Gingivitis, Parodontitis und Zahnverlust (Marshall-Day et al. 1955)

## 1.2 Ätiologie und Pathogenese

### 1.2.1 Chronische Biofilminfektion

Bakterien sind in der Lage, sich an Oberflächen anzuheften und zu Komplexen zusammenzuschließen, die von einer Polysaccharidmatrix umgeben sind (18). Dies wird als Biofilm bezeichnet, in dem Bakterien zu hochorganisierten Strukturen heranwachsen können. Im Biofilm sind Bakterien 1000 mal resistenter gegen Medikamente und die Immunabwehr als in planktonischer Form (17,18,78). Ein Grund für die erhöhte Resistenz der Keime z. B. gegen Antibiotika ist die Polysaccharidmatrix, die die Keime wie einen Schutzfilm umgibt. Nur bedingt können Antibiotika durch diese Matrix hindurch diffundieren, so dass die minimale Hemmkonzentration nicht so leicht erreicht werden kann, als wenn sie in planktonischer Form vorliegen. Zudem wird vermutet, dass innerhalb des Biofilms die Übertragung von Virulenzfaktoren durch Gentransfer ermöglicht wird, so dass ein avirulenter Keim virulent werden kann, oder ein nicht resistenter Keim gegen ein Antibiotikum resistent werden kann (78).

### 1.2.2 Erregerassoziierte Aspekte

Im subgingivalen Biofilm wurden bisher bis zu 500 verschiedene Spezies nachgewiesen, von denen jedoch nur wenige pathogen sind (21,37). Zu den wichtigsten parodontopathogenen Keimen zählen *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* und *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (16,95), doch auch *Prevotella intermedia* und *Prevotella nigrescens* wurden in einer erhöhten Anzahl im parodontal geschädigten Gewebe detektiert (95). Alle



Keime bilden Bakterienkomplexe (7,95) und organisieren sich zu Biofilmstrukturen (37). Die Vermehrung dieser Mikroorganismen ist abhängig von den ökologischen Bedingungen in der parodontalen Tasche wie z.B. dem pH-Wert, osmotischem Druck, Temperatur, Eisenkonzentration und Antikörpertiter etc., die im Biofilm reguliert werden (62). Die Gewebsdestruktion des Parodontiums entsteht wahrscheinlich durch das komplexe Zusammenspiel der Bakterien untereinander, durch das eigene Immunsystem und durch die Entzündungsreaktionen.

### **1.2.3 *Prevotella intermedia***

Die schwarz pigmentierten *Bacteroides*-Arten werden taxonomisch unterteilt in die Gruppe mit hoher saccharolytischer Aktivität, die dem genus *Prevotella* angehören (85), sowie der Gruppe mit nicht vorhandener saccharolytischer Aktivität, die dem genus *Porphyromonas* zugeordnet sind (86). *Prevotella intermedia*, ein obligat anaerobes, gramnegatives, schwarz pigmentiertes Bakterium, das dem genus *Prevotella* zugehört, konnte durch die DNA-DNA Hybridisierung 1992 in zwei klar zu unterscheidende Stränge eingeteilt werden: ATCC 25611 *Prevotella intermedia* und ATCC 33563 *Prevotella nigrescens* (87, Abb. 2, Seite 4). Taxonomisch unterscheiden diese sich durch die Lipaseaktivität, die bei *Prevotella nigrescens* schwächer ausgeprägt ist als bei *Prevotella intermedia*, was sich ebenfalls in den unterschiedlichen elektrophoretischen Profilen widerspiegelt (87).

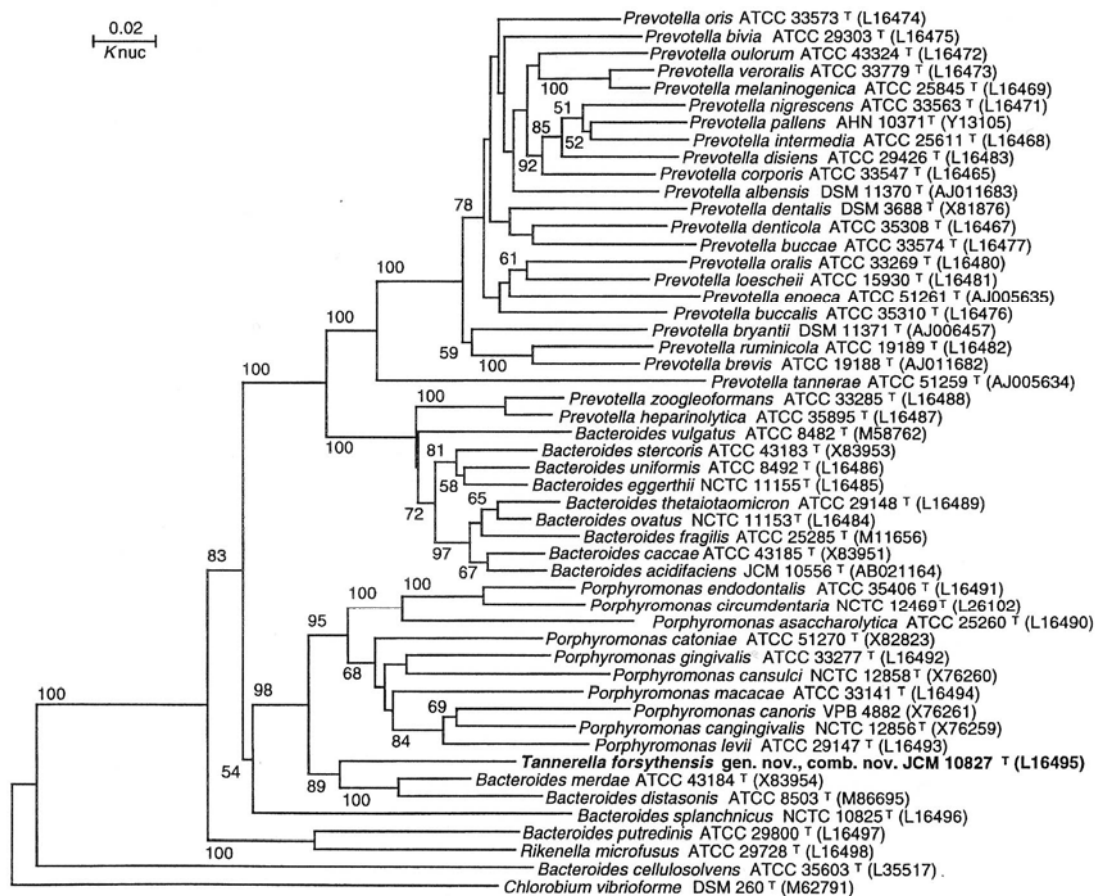


Abb. 2 Genetischer Stammbaum, der die Positionen der drei untersuchten Keime innerhalb der *Bacteroides*-Subgruppen zeigt (Sakamoto et. al. 2002).

Um pathogen zu wirken, muss ein Bakterium Virulenzfaktoren aufweisen, die ihm die Adhäsion, die Invasion, das Wachstum, die Vermehrung, sowie die Gewebsdestruktion in der parodontalen Tasche ermöglichen. Zu den Virulenzfaktoren zählen proteolytische und hydrolytische Enzyme wie Cysteinproteasen (96), Dipeptidylpeptidase (30), saure und alkalische Phosphatase (90), die für die Nahrungsbeschaffung entscheidend sind (29). Darüber hinaus ist *P. intermedia* mit Hilfe der gebildeten Proteasen in der Lage, Bindegewebe, Kollagene und Immunglobuline zu zersetzen (31). Die Dipeptidylpeptidase (DPP) von *P. intermedia* mit einem Molekulargewicht von 74-kDa und einem pH-Optimum von 7,0-7,5 beinhaltet einen Serinrest an seiner aktiven Seite und wurde in die DPP IV klassifiziert (88). Die DPP IV unterscheidet sich von den anderen Dipeptidylpeptidasen durch die komplette Hemmung von diisopropyl fluorophosphate (DFP) und durch die nur relative

Hemmung von phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) (88). In Untersuchungen stellte sich heraus, dass die DPP IV von *Porphyromonas gingivalis* ein pathogener Faktor ist, der die Gewebszerstörung mitverantwortet. Bislang wurden jedoch die DPP IV Funktionen von *P. intermedia* auf virulente Faktoren noch nicht weiter untersucht (88).

Haem ist ein weiterer wichtiger Virulenzfaktor von *P. intermedia*, der eine Schutzfunktion ausübt, und sich auch in einer Reihe anderer gramnegativer Bakterien finden lässt. *P. intermedia* besitzt die Fähigkeit, Haem in seiner Oberflächenmembran zu produzieren und zu sammeln, wodurch es sich vor den in der Gingivalflüssigkeit befindlichen Hydrogenperoxidasen und seiner eigenen Katalasefähigkeit schützt (94). Selbst bei einem pH-Abfall unter 5,5 behält es durch die protonierte Haemkonfiguration FE(III)PPIX.OH seine katalytische Oberfläche (94). Dies ist der Grund für die relativ frühe Besiedlungsmöglichkeit von *P. intermedia* in der supragingivalen Plaque, bei der der pH-Wert nicht konstant bleibt (64,93).

Des Weiteren vermitteln Virulenzfaktoren die Adhäsion des Bakteriums an die Epithelzelle sowie die Coaggregation zwischen verschiedenen Bakterienspezies. Diese ersten Schritte der Kolonisation spielen eine entscheidende Rolle in der bakteriellen Infektion. Mehrere Aggregationsfaktoren von *P. intermedia* und *P. gingivalis* (49,68) sowie zwischen *Prevotella intermedia* und *Streptococcus salivarius* sind bekannt (59). Dabei wird den bakteriellen Fimbrien eine bedeutende Funktion bei der Aggregation zugeteilt. Elektronenmikroskopisch konnten vier unterschiedliche Fimbrienstrukturen erkannt werden, die anhand ihrer Größe in A (1-2 nm Durchmesser), B (ohne Angabe), C (8 nm) und D (5 nm) eingeteilt wurden (40). Ein 57-kDA schweres Lactoferrinbindungsprotein wurde auf der Zelloberfläche von *Prevotella intermedia* identifiziert (3). Dieses zeigte eine hohe Bindungsaffinität zu Fibronectin, Kollagen Typ I und IV sowie Laminin und eine gemäßigte Bindungsaffinität zu Fibrinogen. Lactoferrin scheint mit dem 57-kDA schweren Oberflächenantigen von *Prevotella intermedia* um die Bindungsstellen der subepithelialen Matrixproteine zu konkurrieren, was auf eine mögliche Schutzfunktion hinweist (3).

Die Invasion in die Epithelzelle - ein weiterer Virulenzmechanismus - erlaubt es den Bakterien, sich während der Entzündungsreaktion der humoralen Immunabwehr zu entziehen und in das Gewebe tiefer einzudringen. Hierfür sind ebenfalls die auf der Oberflächenmembran befindlichen Fimbrien verantwortlich. Drei Isolate von *Prevotella intermedia* konnten über ihre unterschiedliche Fimbrienstruktur auf der Zelloberfläche identifiziert werden: *Prevotella intermedia* 17 mit Typ C Fimbrien, ein Isolat einer parodontalen Tasche, *Prevotella intermedia* 27, ein Isolat einer apikalen Läsion und *Prevotella intermedia* ATCC 25611 (23). *Prevotella intermedia* 17 mit Typ C-Fimbrien wurde dreimal häufiger detektiert und zeigte wesentlich bessere Fähigkeiten, in die Epithelzelle einzudringen. Der genaue Vorgang der Invasion ist nicht bekannt. *Prevotella intermedia* ATCC 25611 Zellen wurden, befestigt an der Epithelzelle, selten bis überhaupt nicht beobachtet. *P. intermedia* ATCC 49046 ist ebenfalls wenig bis gar nicht invasiv (41).

Außer als physikalische Barriere fungiert das Epithel als Sensor für die Präsenz von Bakterien. Somit ist die Induktion der Inflammation neben der Penetration der Keime in tieferes Gewebe das nächste wichtige Charakteristikum der Entzündung. Der direkte Kontakt zwischen Bakterium und Zelloberflächenmembran bewirkt die Ausschüttung einer Reihe von Entzündungsmediatoren. Ein solcher Modulator der Induktion ist Interleukin-8. Das Ergebnis einer kontinuierlichen Produktion dieses proinflammatorischen Zytokins ist die neutrophile Granulozyteninfiltration in infiziertes Gewebe. Die Interleukin 8-Produktion wird bereits vier Stunden nach Infektion mit *Prevotella intermedia* ATCC 49046 ausgelöst und scheint für die Progression der parodontalen Infektion sowie der Gewebsdestruktion wichtig zu sein (41).

Nachdem Interleukin 8 in einer initialen Läsion die neutrophile Granulocytendiapedese und die Gefäßdilatation aktiviert hat, folgt die frühe Läsion, die für das Auftreten von Lymphocyten und eine beginnende Zerstörung von Kollagenfasern spezifisch ist. Die etablierte Läsion entwickelt sich zwischen der zweiten und dritten Woche, in der vermehrt antikörperproduzierende Plasmazellen auftreten. Die Zerstörung der Kollagenfasern schreitet voran und das Saumepithel proliferiert nach apikal, wodurch eine gingivale Tasche

entsteht. Diese Phase kann in eine fortgeschrittene Läsion übergehen, in der durch den Einfluss von Interleukin I, TNF $\alpha$  oder PGE<sub>2</sub> die Osteoklasten aktiviert werden und es dadurch zum Abbau von alveolären Knochen und Attachmentverlust kommen kann.

Ein weiterer in der Literatur beschriebener Virulenzmechanismus von Bakterien besteht darin, die humorale Immunabwehr zu deaktivieren. In einer Studie konnte eine Degradierung und Inaktivierung der Proteinketten von Immunglobulinen durch *P. intermedia* beobachtet werden (46). *P. intermedia* braucht die proteolysierten Immunglobuline als Nahrungssubstrat, für das Wachstum und seine Vermehrung.

#### **1.2.4 *Prevotella nigrescens***

*Prevotella nigrescens*, ein obligat anaerobes, gramnegatives, schwarzpigmentiertes Bakterium, das dem genus *Prevotella* zugeschrieben wird, unterscheidet sich taxonomisch von *Prevotella intermedia* durch seine schwächer ausgeprägte Lipaseaktivität (87).

Aufgrund seiner bekannten Virulenzfaktoren wird *P. nigrescens* als parodontopathogen eingestuft. Diese ähneln denen von *P. intermedia* sehr. So besitzt *Prevotella nigrescens* proteolytische und hydrolytische Enzyme, die für die Nahrungsbeschaffung, das Wachstum und die Vermehrung entscheidend sind (29,30,31,90,96).

Des Weiteren konnte Haem in der Zellmembran von *P. nigrescens* nachgewiesen werden, das zum Schutz vor den in der Gingivalflüssigkeit befindlichen Hydrogenperoxidasen, sowie seiner eigenen Katalasefähigkeit dient (94). Bis zu einem pH-Wert von 5,5 kann der Keim so seine katalytische Oberfläche beibehalten, wodurch das Überleben selbst in supragingivalen Bereichen, in denen es häufig zu pH-Schwankungen kommt, möglich wird.

Ebenfalls konnte, wie schon bei *Prevotella intermedia* erwähnt, der Virulenzmechanismus der De- und Inaktivierung von Antikörpern bei *P. nigrescens* nachgewiesen werden (46).

### 1.2.5 *Tannerella forsythensis*

Das gramnegative, obligat anaerobe Bakterium *Tannerella forsythensis* wird als die erste Species dem neuen Genus *Tannerella* zugeordnet. Das Bakterium wurde zuerst von Tanner et al. 1979 (101) beschrieben und *Bacteroides forsythus* genannt (102). Basierend auf der 16 S RNA Sequenzanalyse wurde *B. forsythus* reklassifiziert und zu *Tannerella forsythensis* umbenannt (81).

Auch *Tannerella forsythensis* besitzt zahlreiche Virulenzfaktoren: Es konnten hydrolytische und proteolytische Enzyme von *Tannerella forsythensis* nachgewiesen werden (29), unter anderem Trypsin, das zu den wichtigsten Faktoren für die Gewebszerstörung bei der Parodontitis gehört (35,98). Darüber hinaus verfügt *Tannerella forsythensis* über Neuraminidaseaktivität, die Sialoproteine im Epithel angreift, wodurch die Permeabilität für bakterielle Produkte ansteigt (81,97). Zudem konnte ein „apoptotic inducing factor“ nachgewiesen werden, der die Fähigkeit besitzt, Immunzellen zu zerstören (4). Die Cysteinprotease, codiert auf dem *prTH*-Gen von *Tannerella forsythensis* und mit einem Molekulargewicht von 48-kDA, scheint eine besondere Rolle in der Pathogenese der Parodontitis zu spielen. Sie zeichnet sich durch proteolytische sowie auch hydrolytische Aktivität aus (99).

*Tannerella forsythensis* besitzt weitere Virulenzfaktoren, zu denen die Adhärenz an das gingivale Epithel zählt (41,105). Inwieweit *Tannerella forsythensis* Epithelbarrieren passieren kann, wird in der Literatur kontrovers diskutiert. In einer Studie wurde *Tannerella forsythensis* am häufigsten intraepithelial detektiert (22), wohingegen in einer anderen die Invasionskraft von *Tannerella forsythensis* als gering eingestuft wurde (41). Des Weiteren konnten nur eine geringe Interleukin 8-Sekretion nach Adhäsion von *Tannerella forsythensis* an das gingivale Epithel festgestellt werden, was auf eine reduzierte Neutrophilenmigration hindeutet (41).

Für eine mögliche Modifizierbarkeit des genetischen Codes sprechen die verschiedenen *Tannerella forsythensis*-Isolate, die für jeden Patienten verschieden sind (13,89). Hierdurch könnte *Tannerella forsythensis* seine Oberflächenantigene modulieren, um der humoralen Immunantwort des Wirtes zu entgehen.

### **1.2.6 Wirtsassoziierte Aspekte**

Das Immunsystem ist verantwortlich für den Schutz des Organismus vor Infektionskrankheiten. Es umfasst das unspezifische und spezifische Abwehrsystem. Beide untergliedern sich jeweils in eine zelluläre und humorale Komponente. Im Rahmen der humoralen Immunabwehr kann das Immunsystem gegen Mikroorganismen hochspezifische Antikörper bilden, die ein Antigenmolekül unter  $10^8$  ähnlichen Molekülen erkennen können. Diese Antigen-Antikörperkomplexe führen dann zur Neutralisation und/oder Elimination dieser Keime durch Makrophagen. Bezogen auf das Parodontium konnte gezeigt werden, dass die subgingivale Plaque bei Immungeschwächten schneller zu wachsen scheint als bei Gesunden, so dass man vermuten könnte, dass die humorale Immunabwehr wichtig für die bakterielle Begrenzung sei (15). Die Immunglobuline sind die entscheidenden Faktoren der humoralen Immunabwehr und können nachgewiesenermaßen eine Reihe ganz unterschiedlicher protektiver Funktionen ausführen, zu denen unter anderem die Behinderung der bakteriellen Adhäsion, Aggregation und Invasion zählen (14,36,108). Doch viele Studien beschränken sich auf den Antikörpertiter bei der Frage, ob Antikörper protektiv wirken (19,20,38,39,44,45,68,69). Mit dem Titer lässt sich die Antikörperkonzentration bestimmen, von der man nicht direkt ableiten kann, ob ein Schutz vor einer bakteriellen Infektion besteht oder nicht. Ein weiterer entscheidender Faktor bei der Reaktion von Antikörpern ist die Affinität, die die Bindungsstärke des Antikörpers zum Antigen beschreibt. Antikörper mit höherer Affinität binden bereits in niedrigen Konzentrationen an

die Antigene. Je höher daher die Affinität eines Antikörpers zu seinem Antigen, desto weniger Antikörper werden während der Immunantwort benötigt, um das entsprechende Antigen zu eliminieren.

Es zeigt sich weitestgehend Übereinstimmung in der Literatur darüber, dass eine vermehrte lokale IgA-Antikörperproduktion einen protektiven Effekt vor *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* und *Tannerella forsythensis* bewirkt (33,55,57,77,83). Jedoch wurde bei Kindern mit Parodontitis und einem erhöhten Antikörpertiter von IgA gezeigt, dass ein erhöhter Titer nicht unbedingt einen ausreichenden Schutz vor Parodontitis bietet, sondern auch ein Zeichen sein kann für eine Chronifizierung der Erkrankung mit weiterem Fortschreiten der Gewebsdestruktion (2,53).

Ein anderer Ansatz, die Funktion der humoralen Immunabwehr zu durchleuchten, ist die Untersuchung der lokalen und systemischen Immunabwehr. Zum einen gelangen Immunglobuline über die lokal produzierten Plasmazellen zur parodontalen Läsion, zum anderen systemisch über den Blutkreislauf (51). Der präzise Ablauf der lokalen und systemischen Immunabwehr ist bislang noch nicht hinreichend geklärt.

Für die weitere Klärung der Pathogenese der Parodontitis scheinen auch die Antikörperdistributionen von Interesse zu sein. Einige Untersuchungen deuten darauf hin, dass hierfür entscheidende Einflußfaktoren die lokale und systemische Antikörperproduktion (2,51), die bakterielle Infektion (27,28,50), sowie auch die Lokalisation der Plasmazellen im parodontalen Gewebe sind (45,69).



## 2 Problemstellung

Ziel dieser Studie war es, bei Patienten mit chronischer Parodontitis zu untersuchen,

- gegen welche antigenen Determinanten der Membranproteine von *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563) und *Tannerella forsythensis* (ATCC 43037) die Serum-Immunglobuline IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub> vor und nach Therapie gerichtet sind;
- ob sich gegen spezifische Determinanten gerichtete Antikörper vor und nach Parodontitistherapie identifizieren lassen, die für die Serodiagnostik geeignet sind;
- ob sich die Serum-Immunglobuline IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub> gegen diese spezifischen Determinanten von *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563) und *Tannerella forsythensis* vor und/oder nach Parodontitistherapie protektiv auf die Progredienz der Taschensondierungstiefen auswirken;
- ob sich die Parodontitistherapie auf die Antikörperreaktivitäten auswirkt und einen Einfluss auf die Rekolonisation der Keime besitzt.

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Studienkollektiv**

#### **3.1.1 Rekrutierung und Selektion der Probanden**

In einer Vorarbeit wurden aus dem Patientenkollektiv der Abteilung für Parodontologie der Zahn-, Mund- und Kieferklinik der Julius-Maximilians-Universität Würzburg 35 Patienten mit chronischer Parodontitis mit mittlerem bis schwerem Schweregrad rekrutiert. Alle Probanden dieser Studie unterschrieben eine schriftliche Einverständniserklärung, die von der Ethikkommission der Universität Würzburg genehmigt war.

#### **3.1.2 Klinische Diagnostik**

Bei allen Probanden wurde vor Therapie eine Befunderhebung aller Parodontien der gesamten Dentition durchgeführt. Die Taschensondierungstiefen (TST) und das Bluten auf Sondierung (BAS) wurde bei allen Patienten an 6 Stellen pro Zahn (mesiobukkal, bukkal, distobukkal, mesiolingual, lingual, distolingual) mit einer Parodontalsonde (PCP-UNC 15, Stoma<sup>®</sup>, Storz am Mark, D) vor Therapie (Phase I) und 6 Monate nach Therapie (Phase IV) registriert.

### 3.1.3 Therapie

Die Therapie, die in der Vorarbeit durchgeführt wurde, umfasste eine nichtchirurgische Parodontitistherapie, bestehend aus einem sub- und supragingivalen Scaling unter Lokalanästhesie. Nach 6 Monaten erfolgte wenn notwendig eine nochmalige Mundhygieneinstruktion. Die Vollständigkeit des Scalings, d.h. die Entfernung aller supra- und subgingivalen Beläge, wurde mit einer feinen Sonde (3A-Sonde, Hu-Friedy<sup>®</sup>, USA) überprüft.

### 3.1.4 Probensammlung

Zur Analyse der intraoralen und subgingivalen Kolonisation mit *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563) und *Tannerella forsythensis* (ATCC 43037) wurden in Voruntersuchungen von jedem Patienten vor Therapie (Phase I) sowie 1,5 Monate (Phase II), 3 Monate (Phase III) und 6 Monate (Phase IV) nach Therapie folgende Proben entnommen:

1. Subgingivale Plaqueproben der jeweils identischen 4 tiefsten Taschen (TST > 6 mm) mit sterilen Küretten zu den Zeiten der unterstützenden Parodontitistherapie. Die supra- und subgingivalen Plaqueproben wurden mit einer sterilen Kürette entnommen, in 200 µl destilliertes Wasser gegeben und bis zur Analyse bei -70°C gelagert.
2. Abstriche von Zunge, Wange (rechts und links) und Tonsillen (rechts und links) zu den Zeiten der unterstützenden Parodontitistherapie wurden mit sterilen Watteträgern entnommen. Die Watteträger wurden in 1 ml RTF-Lösung geschwenkt und bis zur Analyse bei -70°C gelagert.

Zur Analyse der Serumantikörperreaktivität wurde jedem Probanden in jeder der vier Phasen 50 ml peripher-venöses Blut via antekubitaler Punktion entnommen und in ein steriles 50 ml Polypropylen-Zentrifugenröhrchen (Fa. Greiner<sup>®</sup>, Frickenhausen, D) übertragen. Das entnommene Blut wurde vier Stunden bei Raumtemperatur (RT) aufbewahrt und anschließend bei 4.000 g

für 20 min. zentrifugiert (Labofuge Ro 6000, Fa. Heraeus®, D). Nach Abschöpfen und Portionieren in 1 ml Kryoröhrchen wurde das gewonnene Serum dicht verschlossen und bei -20°C bis zur weiteren Verwendung aufbewahrt.

### **3.2 Mikrobiologische Analyse / Nachweis von *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* und *Tannerella forsythensis***

In Voruntersuchungen wurden Polymerasekettenreaktionen durchgeführt, um eine mögliche subgingivale oder intraorale Kolonisation mit *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563) und *Tannerella forsythensis* (ATCC 43037) vor und nach Parodontitistherapie nachzuweisen. Für die Identifikation von *Tannerella forsythensis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* wurden 16S rRNA spezifische Primer gewählt (5,91). Bei der Durchführung wurden 3 µl der isolierten DNA zu den PCR-Proben hinzugefügt. Dann erfolgte die Zugabe von 30 pmol des jeweiligen Primers, 200 µM der Desoxyribonukleotide mit den vier entsprechenden Basen (Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin), 2,5 µl Polymerase Synthese Puffer (Eppendorf®, Hamburg, D), 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> und 2,0 U Taq-DNA Polymerase zu einem Endvolumen von 25 µl. Als Positivkontrolle wurde isolierte DNA von *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563) und *Tannerella forsythensis* (ATCC 43037) und als Negativkontrolle destilliertes Wasser genommen. Bei jedem PCR-Durchlauf lief eine Positiv- und eine Negativkontrolle mit. Jeder Ansatz wurde über 35 Zyklen von je 30 Sekunden bei 95°C und 60 Sekunden bei 72°C amplifiziert. 18 µl von jedem PCR-Endprodukt wurden auf ein 1,8% Agarosegel aufgetragen und elektrophoretisch aufgetrennt. Die Gele wurden mit Ethidiumbromid gefärbt und die Banden unter UV-Licht sichtbar gemacht.

### 3.3 Immunologische Analyse

#### 3.3.1 Kultivierung von *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563) und *Tannerella forsythensis* (ATCC 43037)

*Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563) und *Tannerella forsythensis* (ATCC 43037) wurden bei 37°C auf Anaerobier-Blut-Agar nach CDC in einer 5-10% CO<sub>2</sub>-Atmosphäre (GasPak Anaerobic System, BBL, Cockeysville, USA) kultiviert. (76) Nach 7-tägiger Anzucht wurden die Bakterien mit steriler 0,85% NaCl-Lösung mit einem Drygalski-Spatel von den Platten abgeschwemmt.

CDC-Agar (g/Liter):

15	Pepton aus Casein (Becton Dickinson)
5	Pepton aus Sojamehl (Sigma)
5	Hefeextrakt (Merck)
5	Natriumchlorid (Sigma)
0,5	L-Cystein (Fluka)
13,5	Agar-Agar (Becton Dickinson)
0,005	Hemin (Fluka)
0,01	Vitamin K1 (Sigma)
50 ml	defibriniertes Schafblut (WDT)

### **3.3.2 Isolierung der äußeren Membranproteine von *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563) und *Tannerella forsythensis* (ATCC 43037)**

Die in dieser Untersuchung verwendeten Proteine wurden durch Beschallen der Erreger und anschließender Detergenzbehandlung gewonnen. Die Bakteriensuspensionen wurden in vier Röhrchen à 45 ml gefüllt und 30 min. lang bei 4.800 g und 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, das Sediment mit NaCl resuspendiert und anschließend erneut 30 Minuten lang bei 4.800g und 4°C zentrifugiert. Nun wurde das Gesamtsediment in einem Röhrchen auf 24 ml Gesamtmenge in NaCl 0,9% verdünnt und auf 24 Eppendorfröhrchen à 1 ml verteilt. Danach wurden die Bakteriensuspensionen 30 Minuten bei 10.000 g und 4°C zentrifugiert (Refrigerated Superspeed Centrifuge, Fa. Sorvall®, Bad Homburg, D), in Phosphatpuffer (0.05 M, pH 7.0) gewaschen und anschließend erneut zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Sediment resuspendiert (50 mM Tris-HCl, 2mM EDTA, pH 8.5). Die Bakteriensuspension wurde nun 7x in Intervallen von je 1 min bei 4°C mit einer Leistung von 70 Watt/cm<sup>2</sup> abwechselnd beschallt (B15 Sonicator, Fa. Branson®, Danbury, USA). Mittels Triplanblaufärbung ließ sich mikroskopisch feststellen, dass mindestens 90% der Zellen lysiert waren. Anschließend gewann man durch 15-minütiges Zentrifugieren bei 1.500 g und 4°C ein aus intakten Zellen bestehendes Sediment, welches verworfen wurde. Der die äußeren Membranen enthaltende Überstand wurde hochtourig (40.000 g) bei 4°C 1 h zentrifugiert (Ultrazentrifuge 60 Ti, Fa. Beckmann®, München, D). Das Sediment wurde mit 3 ml Detergenzlösung (125 mM Tris-HCl, 18.8 g N-Lauroyl-Sarcosinat, pH 7.6) resuspendiert und 30 min. inkubiert. Durch erneutes Ultrazentrifugieren (40.000 g, 1 h bei RT) wurde die Cytoplasmamembran selektiv mizellisiert, während die Fragmente der äußeren Membran sedimentierten. Das Sediment, das nun die Proteine der äußeren Bakterienmembranen enthielt, löste man in 1 ml Aqua dest. und bewahrte es zur weiteren Verwendung bei -20°C auf.

### 3.3.3 Immunoblotanalyse

Die antikörperklassenspezifische (IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>) Reaktivität aller Probandenserum gegen äußere Membranproteine von *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563) sowie gegen *Tannerella forsythensis* (ATCC 43037) wurden mit Hilfe des Immunoblot (Western Blot) analysiert. Beim Antigennachweis durch den Immunoblot werden komplexe Antigengemische mittels Elektrophorese aufgetrennt. Durch elektrisch geregelte Diffusion werden sie auf eine Festphase übertragen, die als Trägermaterial zur Immobilisierung der antigenen Proteine diente. Nach Inkubation mit Serum lassen sich die gebundenen Serumantikörper durch enzymkonjugierte speziesspezifische Zweitantikörper mit Hilfe eines Entwicklungsreagenz in Form von Banden darstellen. Dies wurde für alle drei Bakterienarten vorgenommen.

### 3.3.4 Identifikation der gegen äußere Membranproteine von *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563) und *Tannerella forsythensis* (ATCC 43037) gerichteten Antikörperreaktivitäten

Zur Auftrennung von Proteinfractionen verschiedener Molekulargewichte wurde die Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) durchgeführt. Zur Herstellung eines Minigels wurde eine Elektrophoresekammer (Mini-Protean II Electrophoresis Cell, Fa. Bio-Rad, München, D) mit 3,6 ml frisch angesetztem Trenngel gefüllt. Eine Übersichtung mit Butanol verhinderte Lufteinschlüsse. Nach 30 Minuten wurde nach Abkippen des Butanols und Spülung mit Aqua dest. auf das gefestigte Trenngel 0,8 ml des frisch angesetzten Sammelgels gegeben. Dieses polymerisierte, ebenfalls mit Butanol überschichtet, für 30 Minuten.

## Trenngel:

14 ml	0,75 M Tris/HCl pH: 8,8
560 µl	10 % SDS in Aqua dest.
5,5 ml	Aqua dest.
7,7 ml	40 % Acrylamid
2,8 ml	2 % Bisacrylamid
710 µl	1 % Ammoniumpersulfat
56 µl	TEMED

## Sammelgel:

10 ml	0,75 M Tris/HCl pH: 8,8
200 µl	10 % SDS in Aqua dest.
7 ml	Aqua dest.
3,3 ml	33 % Acrylamid
1,59 ml	2 % Bisacrylamid
500 µl	1 % Ammoniumpersulfat
40 µl	TEMED

Die zu untersuchenden Proteine, äußere Membranproteine von *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563) und *Tannerella forsythensis* (ATCC 43037) und Low Range Prestained SDS-PAGE standards, (Fa. Bio-Rad®, München, D) wurden 3 min. bei 95°C in Probenpuffer (50 ml 125 mM Tris/HCl, pH: 6,8, 4 g SDS, 20 ml Glycerol, 10 ml Mercaptoethanol, 10 mg Bromphenolblau ad 100 ml Aqua dest.) gekocht. Durch das Kochen des Proteingemischs sowie durch das im Puffer enthaltene SDS und Mercaptoethanol kam es zur Lösung von Disulfidbrücken und somit zur Auftrennung der Polypeptidketten, was eine Auftrennung gemäß der Ladung ermöglichte. Die Proben enthielten folgende Mengen des jeweiligen Antigengemischs: *Prevotella intermedia* 15 µl, *Prevotella nigrescens* 25 µl und *Tannerella forsythensis* 25 µl. Hierzu wurden jeweils 50 µl Probenpuffer gegeben und mit Ampuwa zu einem Endvolumen von 100 µl aufgefüllt. Die Proben wurden anschließend in einer gleichmäßigen Schicht auf das



Sammelgel aufgebracht und elektrophoretisch bei einer Stromstärke von 28 mA (Sammelgel) und 34 mA (Trenngel) getrennt (Dauer ca. 90 min).

Anschließend erfolgte der elektrophoretische Transfer (Blotting) der Proteinbanden auf Nitrozellulose (BA 85 Nitrozellulosenitrat, Porengröße 0,45 µm, Fa. Schleicher & Schöll<sup>®</sup>, Dassel, D). Diese stellt das Trägermaterial für die Immobilisation der Antigene dar. Zum Proteintransfer belegt man die Blotkammer mit einem Sandwich aus Whatman Papier (getränkt in Blotpuffer), Filterpapier, Polyacrylamidgel und Nitrozellulose. Im elektrischen Feld (Spannung: 20 V, Stromstärke < 100 mA) wurden nun die negativ geladenen Protein-SDS-Komplexe in Richtung Anode aus dem Gel auf die Nitrozellulose eluiert (Dauer etwa 20 min). Nach vollständigem Transfer tränkte man die Trägermembran 60 min. in PBS-Tween-Puffer (PBS und 0,05% Tween 20), um die unspezifische Bindung (freie Bindungsstellen) zu reduzieren (Blocking).

Nun konnte die Reaktion der Serumantikörper mit den Antigenen der festen Phase erfolgen. Die Nitrozellulose wurde hierzu der Breite nach in etwa 30 Streifen à 2 mm geschnitten. Die Seren der Probanden wurden mit PBS-Tween-Puffer 1:100 verdünnt und über Nacht bei RT mit den Blotstreifen inkubiert (Inkubationswannen: Fa. Flow<sup>®</sup>, Finnland). Nach dieser Inkubation wurde die Serum-Verdünnung abgegossen und die Blotstreifen 3 mal 10 min. mit PBS-Tween-Puffer gewaschen, um ungebundene Antikörper zu entfernen. Anschließend erfolgte die Reaktion des enzymmarkierten Zweitantikörpers mit den auf der Nitrozellulose gebundenen Antikörpern: Die Nitrozellulosestreifen wurden für 2 h mit alkalischer Phosphatase konjugierter Ziege anti-human IgA (1:2000), IgA<sub>1</sub> (1:2000), IgA<sub>2</sub> (1:3000), IgG (1:4000) (Fa. Dianova<sup>®</sup>, Hamburg, D) sowie mit Maus anti-human IgG<sub>1</sub> (1:2000), IgG<sub>2</sub> (1:2000), IgG<sub>3</sub> (1: 3000) und IgG<sub>4</sub> (1:2000) (Fa. Sigma<sup>®</sup>, Deisenhofen, D) inkubiert. Der Inkubation mit den monoklonalen Antikörpern (IgG<sub>1</sub>-IgG<sub>4</sub>) folgte eine zweistündige Inkubation mit alkalischer Phosphatase konjugierter Ziege-Anti-Maus-IgG (1:1000) (Fa. Dianova<sup>®</sup>, Hamburg, D). Danach wurde das Enzymkonjugat abgegossen und der Waschvorgang dreimal wiederholt.

Durch die Zugabe der chromogenen auf 37°C erwärmten Entwicklerlösung (9,0 ml Substratpuffer-Gebrauchslösung: Diethanolamin 0.9% NaCl 1:15,

200 mg  $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$ , 1,0 ml NBT-Lösung: 0,1 g 4-Nitrotetrazolium-Chloridblau-Hydrat ad 100 ml Aqua dest. und 0,1 ml Indolylphosphat: 0,05 g 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolylphosphat-p-Toluidinsalz ad 10 ml Dimethylformamid) wurden der alkalischen Phosphatase konjugierte Antikörper zugegeben, deren unlösliche Ablagerungen direkt auf der Nitrozellulose dargestellt wurden. Es kam dabei zur Anfärbung derjenigen Banden, die Antikörper aus den Seren gebunden hatten. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Wasser gestoppt. Die Darstellung einer Bande wurde als positive Reaktion gewertet (Abb. 3).

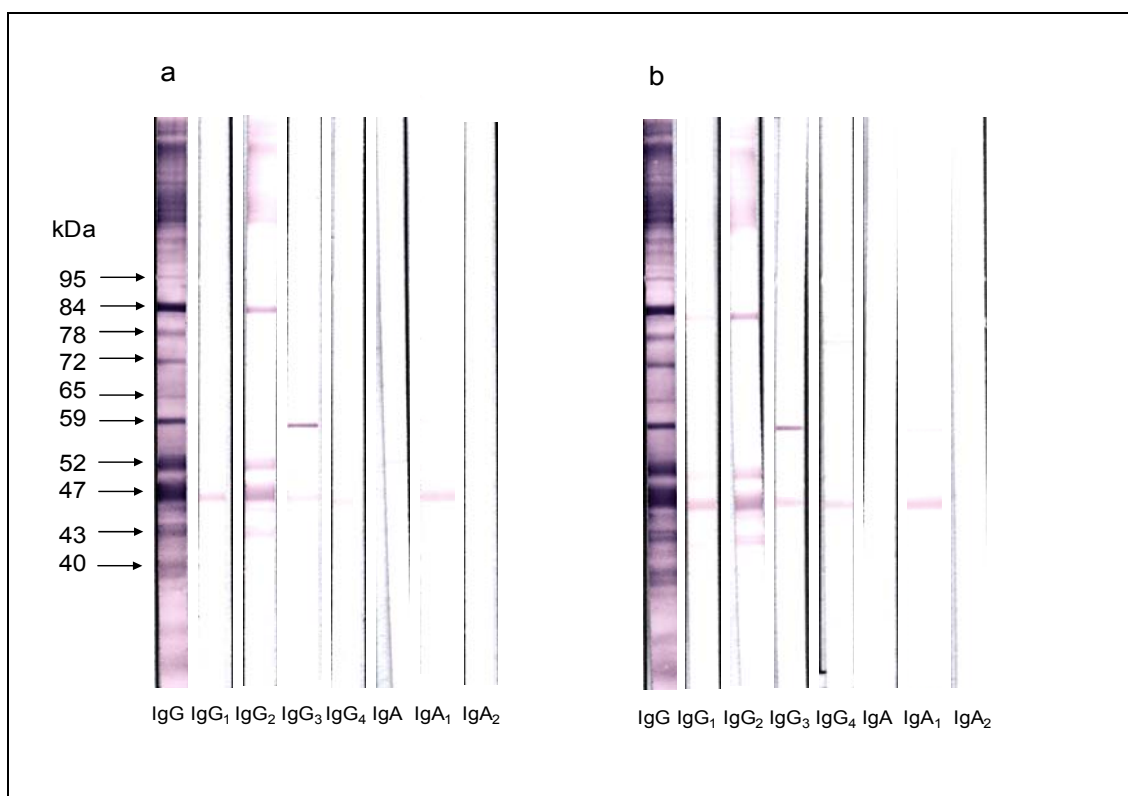


Abb. 3: Exemplarische Darstellung der IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub> Antikörperreaktivitäten eines *Prevotella nigrescens* positiven Patienten gegen die Membranproteine von *P. nigrescens* in der Phase I (a) und in der Phase IV (b) im Western Blot.

### **3.4 Statistik**

Die Untersuchung auf Unterscheidung der Studiengruppen, das heißt Anzahl der Patienten mit und ohne Initialinfektion gegen die Anzahl der Patienten mit hoher und niedriger Antikörperreaktivität, sowie gegen die Anzahl der Patienten mit Erhöhung oder Verringerung der Taschentiefen, wurde mit dem Chi-Quadrat-Test auf Unabhängigkeit zweier Merkmale durchgeführt. Der Vergleich der Regressionsgeraden zwischen den beiden Gruppen erfolgte mittels ANCOVA (Analysis of covariance). Die Methode für Signifikanztests wurde auf den Kontingenztafeln mehrerer Variablen mit Log-Linear berechnet.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Demografie und klinische Parameter des Patientenkollektivs

35 Patienten wurden in diese Studie einbezogen. Die demografischen Charakteristika und die klinischen Parameter des Patientenkollektivs sind in Tabelle 1 dargestellt.

Die mittlere Prozentzahl der Stellen mit TST (Taschensondierungstiefen) zwischen 4 und 6 mm und TST > 7 mm, sowie auch Stellen mit Blutung auf Sondierung (BAS) waren nach 6 Monaten signifikant reduziert (Tab. 1).

	Baseline	6 Monate
Probanden	35	35
Alter (Jahre)	54 ± 12,9	54 ± 12,9
Frauen	14	14
Mittlere Anzahl der Zähne/Patient	22,4 ± 5,9	22,2 ± 6,0
Mittlere Prozentzahl von Stellen mit TST = 4-6 mm	23,1 ± 12,7	10,8 ± 9,2 *
Mittlere Prozentzahl von Stellen mit TST ≥ 7 mm	3,1 ± 4,5	1,9 ± 2,9 *
Mittlere Prozentzahl von Stellen mit BAS	30,8 ± 16,4	6,9 ± 6,8 *

Tab. 1 Demographie und klinische Parameter der 35 Studienpatienten. \* = signifikanter Unterschied (p < 0.05)

## 4.2 Mikrobiologische Ergebnisse

### 4.2.1 Dynamik der intraoralen und subgingivalen Kolonisation mit *Prevotella intermedia* während der Phase I und IV

Zu Therapiebeginn konnten subgingival nur zwei Patienten als Träger von *Prevotella intermedia* identifiziert werden. Bei beiden persistierte der Keim subgingival bis zu 6 Monate nach Therapie. Bei 6 Probanden, die initial eine intraorale Kolonisation aufwiesen, konnte bei der Hälfte der Probanden eine Unterdrückung dieses Mikroorganismus unter die Nachweisgrenze 6 Monate nach Therapiebeginn beobachtet werden. Im Gegensatz hierzu stieg die intraorale Detektionshäufigkeit von *Prevotella intermedia* bei den initial nicht als Träger identifizierten Probanden um nahezu die Hälfte an (Abb. 4 und 5).

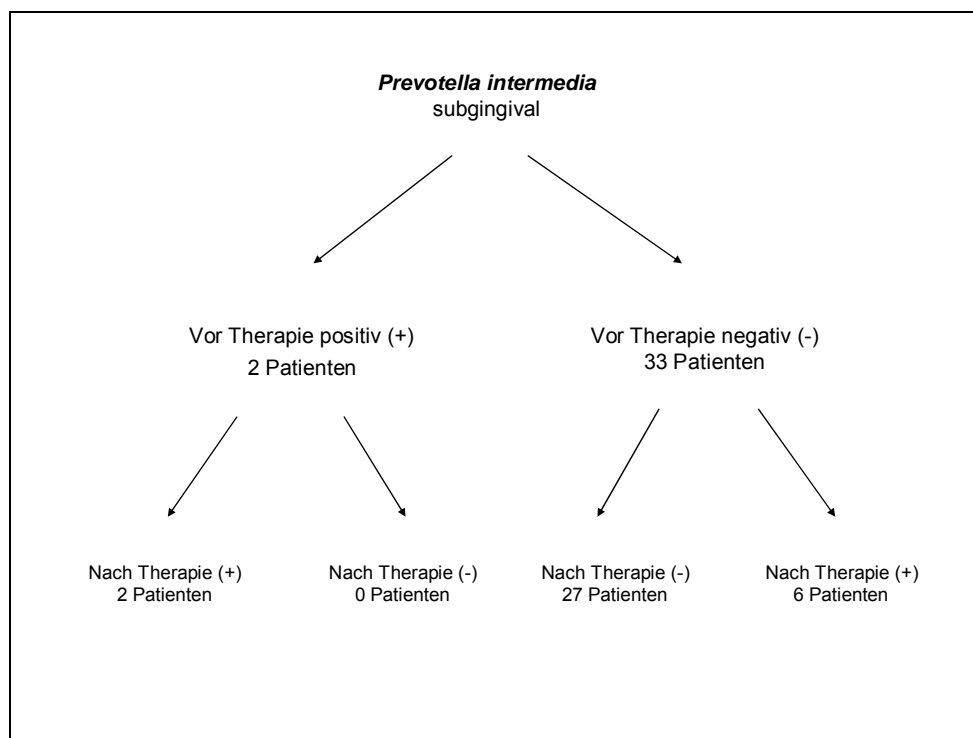


Abb. 4 Dynamik der subgingivalen Kolonisation mit *Prevotella intermedia* vor und nach Therapie

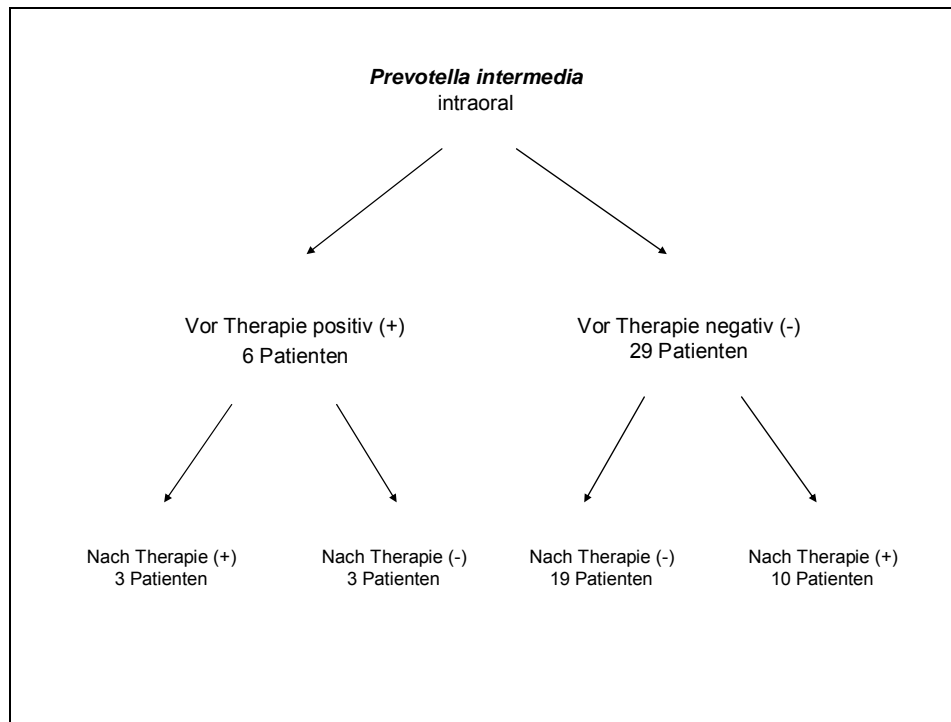


Abb. 5 Dynamik der intraoralen Kolonisation mit *Prevotella intermedia* vor und nach Therapie

#### 4.2.2 Dynamik der intraoralen und subgingivalen Kolonisation mit *Prevotella nigrescens* während der Phase I und IV

Bei 4 der 35 Patienten konnte initial eine subgingivale Kolonisation und bei 9 Patienten eine intraorale Kolonisation mit *Prevotella nigrescens* festgestellt werden. Sechs Monate nach Therapiebeginn stieg die subgingivale Detektionshäufigkeit auf 22 der 35 Patienten an. 20 Patienten wiesen zur Anfangsuntersuchung keine subgingivale Kolonisation auf, während sie in der Phase IV als subgingivale Träger identifiziert wurden. Bei zwei Patienten konnte während des gesamten Untersuchungszeitraums *Prevotella nigrescens* subgingival detektiert werden. Die 26 Patienten, die initial nicht als intraorale Träger von *Prevotella nigrescens* identifiziert worden waren, wiesen 6 Monate nach Therapiebeginn bis auf einen Patienten alle eine intraorale Kolonisation mit diesem Mikroorganismus auf (Abb. 6 und 7, Seite 25).

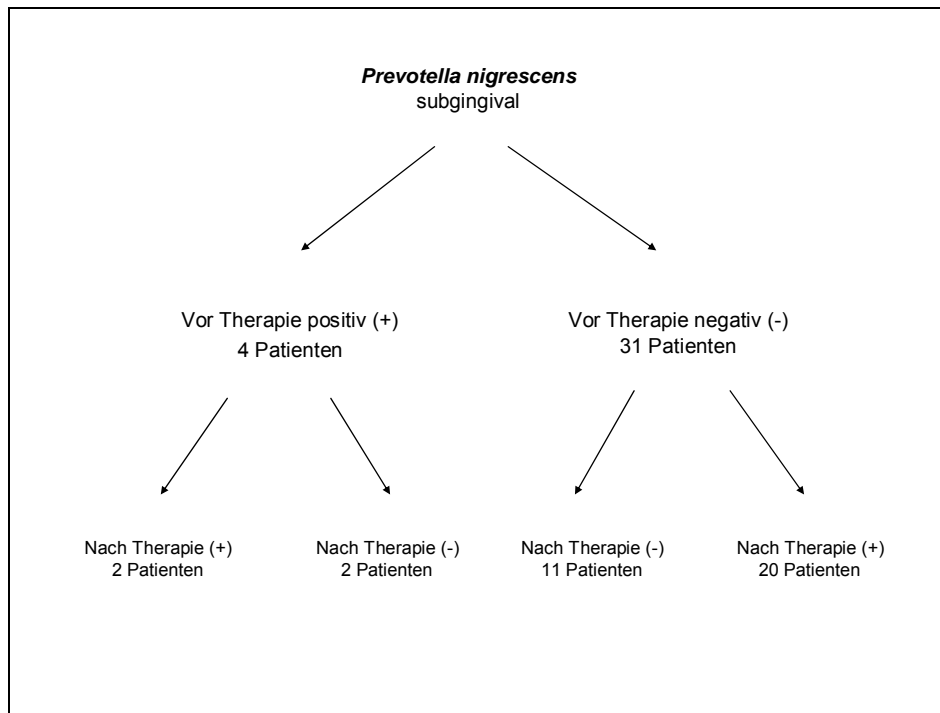


Abb. 6 Dynamik der subgingivalen Kolonisation mit *Prevotella nigrescens* vor und nach Therapie

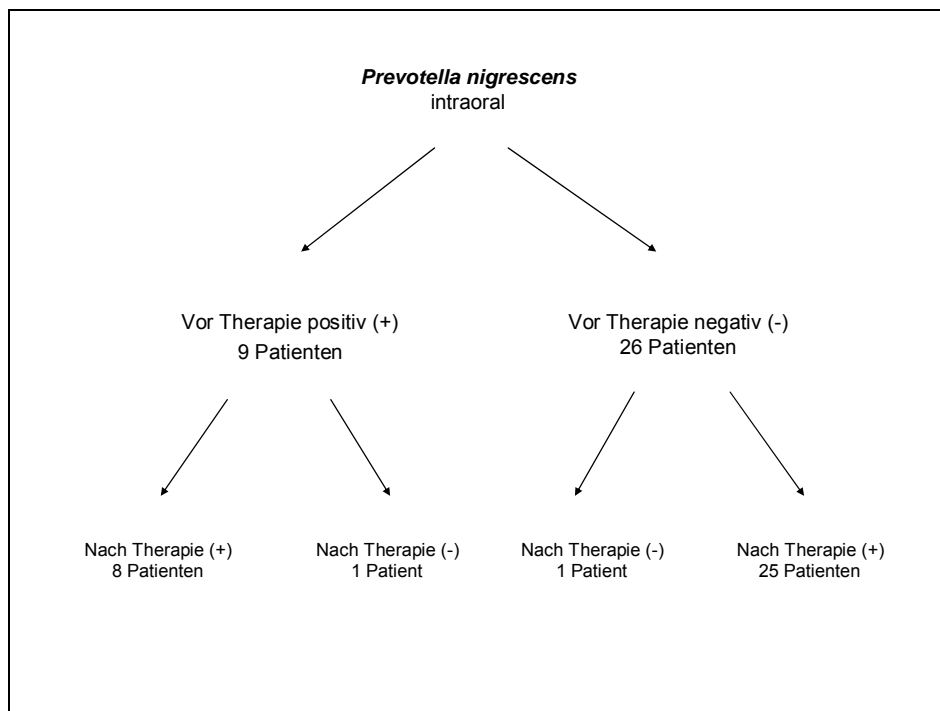


Abb. 7 Dynamik der intraoralen Kolonisation mit *Prevotella nigrescens* vor und nach Therapie

#### 4.2.3 Dynamik der intraoralen und subgingivalen Kolonisation mit *Tannerella forsythensis* während der Phase I und IV

Bei acht von 18 Patienten, die initial keine subgingivale Kolonisation aufwiesen, war *Tannerella forsythensis* auch in der Phase IV nicht feststellbar. Wohingegen bei 14 subgingivalen Trägern und bei 16 von 21 intraoralen Trägern der Keim nach der Therapie persistierte. Die intraorale Detektionsrate der Patienten, die initial nicht als Träger identifiziert wurden, stieg um neun Patienten an (Abb. 8 und 9).

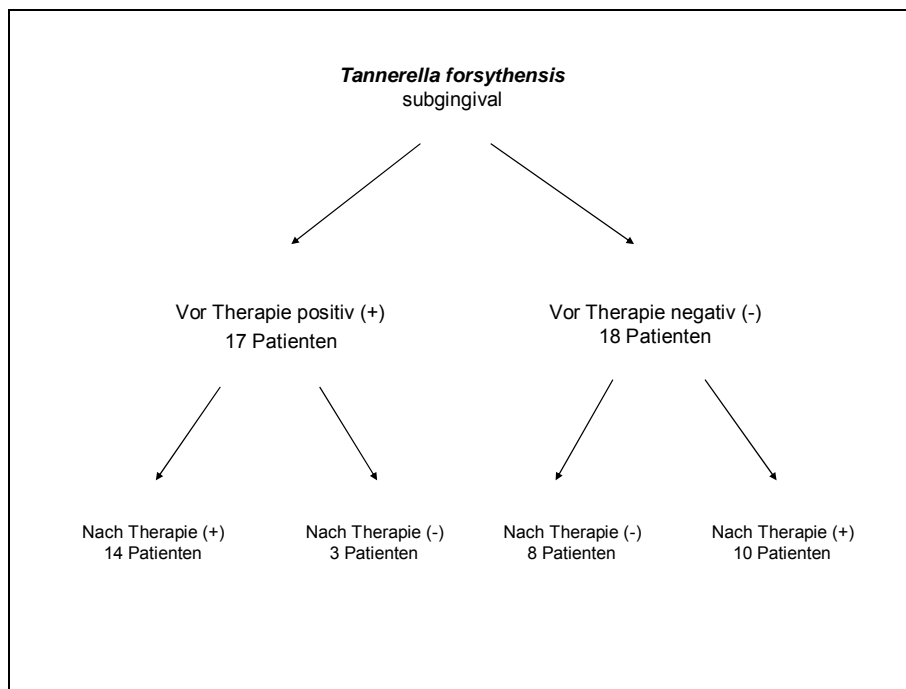


Abb. 8 Dynamik der subgingivalen Kolonisation mit *Tannerella forsythensis* vor und nach Therapie



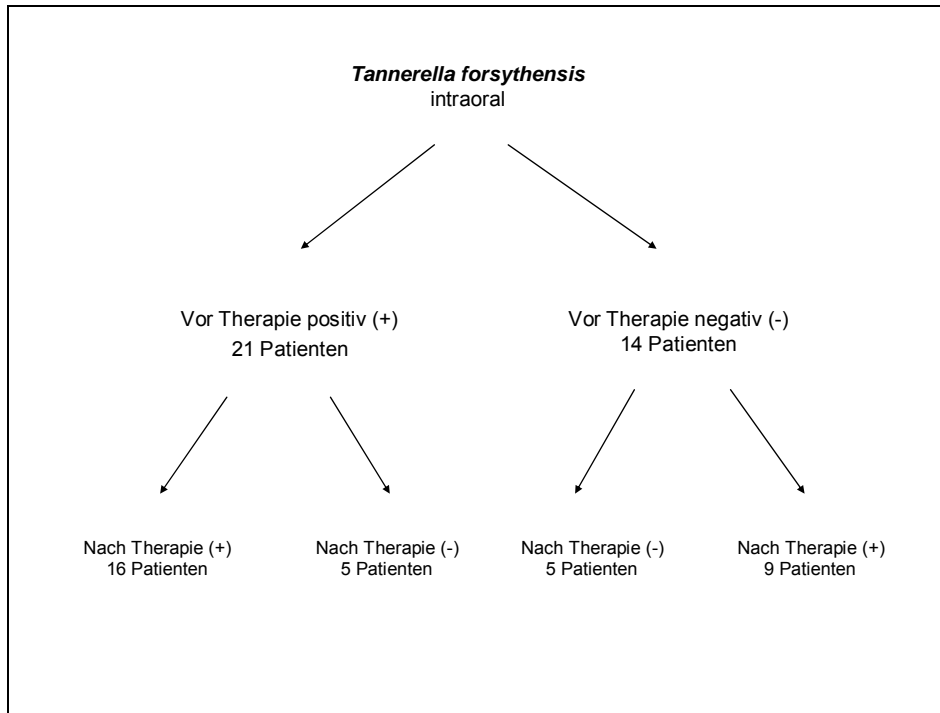


Abb. 9 Dynamik der intraoralen Kolonisation mit *Tannerella forsythensis* vor und nach Therapie

### **4.3 Immunologische Ergebnisse**

#### **4.3.1 *Prevotella intermedia***

##### **4.3.1.1 IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen *Prevotella intermedia***

Die Serumproben der Patienten zeigten IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivität gegen bis zu zwölf unterschiedliche *Prevotella intermedia* Antigene (95-kDa, 87-kDa, 79-kDa, 66-kDa, 62-kDa, 53-kDa, 48-kDa, 46-kDa, 41-kDa, 31-kDa, 25-kDa und 23-kDa), wobei jeder Patient nahezu immer eine IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivität gegen ein ca. 79-kDa Antigen (Hauptantigen) von *Prevotella intermedia* aufwies.

##### **4.3.1.2 Analyse der gegen äußere Membranproteine von *Prevotella intermedia* gerichteten IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten und Korrelation mit der intraoralen und subgingivalen *Prevotella intermedia*-Kolonisation**

###### **4.3.1.2.1 IgA-Antikörperreaktivitäten**

Die IgA-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella intermedia* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unter-

schiedlichem Ausmaß gegen alle untersuchten Antigene, mit Ausnahme des 25-kDa und 23-kDa schweren Antigens gerichtet (Tab. 2, Abb. 10 und 11).

			IgA-Antikörperreaktivität gegen Antigen [kDa]										
			95	87	79	66	62	53	48	46	41	25	23
Pat. Nr.	n MP	P.i. pos.											
7	0												
18	1							+					
23	1							+					
3	2			+				+					
4	2							+	+				
14	2							+		+			
17	2			+				+					
20	2			+				+					
25	2			+				+					
28	2							+			+		
31	2							+			+		
5	3			+			+		+				
12	3			+				+		+			
15	3			+				+		+			
16	3			+				+		+			
19	3			+				+		+			
26	3			+				+			+		
29	3							+		+	+		
35	3			+				+			+		
2	4			+	+			+		+			
13	4			+				+		+	+		
21	4			+				+		+	+		
22	4			+				+		+	+		
24	4			+			+		+		+		
27	4			+				+		+	+		
32	4			+				+		+	+		
33	4			+			+		+		+		
34	4	■		+				+		+	+		
1	5	■		+	+			+		+	+		
8	5			+			+		+		+		
30	5			+	+			+		+	+		
9	6	■		+	+	+	+	+		+	+		
10	6			+	+	+	+	+		+	+		
11	6			+	+	+	+	+		+	+		
6	7			+	+	+	+	+		+	+		
	P.i.pos.	AK pos.	0	0	2	1	1	2	0	2	2	0	0
Summe:	2	AK neg.	2	2	0	1	1	0	2	0	0	2	2
	P.i.neg.	AK pos.	0	3	25	4	7	31	0	19	19	0	0
Summe:	33	AK neg.	33	30	8	29	26	2	33	14	14	33	33
		Sensitivität [%]	—	—	—	50	50	—	—	—	—	—	—
		Spezifität [%]	—	91	24	88	79	6	—	42	42	—	—
		P.i. pos. / Ak pos. [%]	—	—	—	50	50	—	—	—	—	—	—
		P.i. pos. / Ak neg. [%]	—	—	—	50	50	—	—	—	—	—	—
		P.i. neg. / Ak pos. [%]	—	9	76	12	21	94	—	58	58	—	—
		P.i. neg. / Ak neg. [%]	—	91	24	88	79	6	—	42	42	—	—

Tab. 2 Analyse der IgA-Antikörperreaktivitäten in der Phase I gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia*. + = positive Antikörperreaktivität gegen entsprechendes Antigen ■ = subgingivaler Nachweis von *P. intermedia*. AK = Antikörperreaktivität gegen Antigen. n MP = Anzahl der Membranproteine gegen die Antikörperreaktivität nachgewiesen wurde.

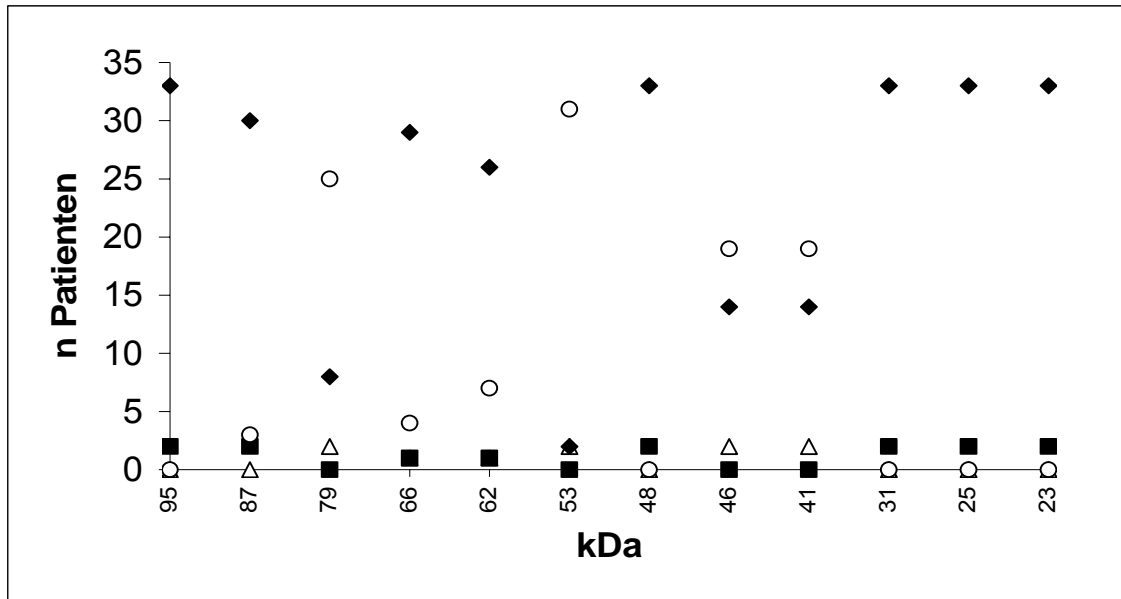


Abb. 10 IgA-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; △ = *P.i.* positiv / AK positiv. Frequenz der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

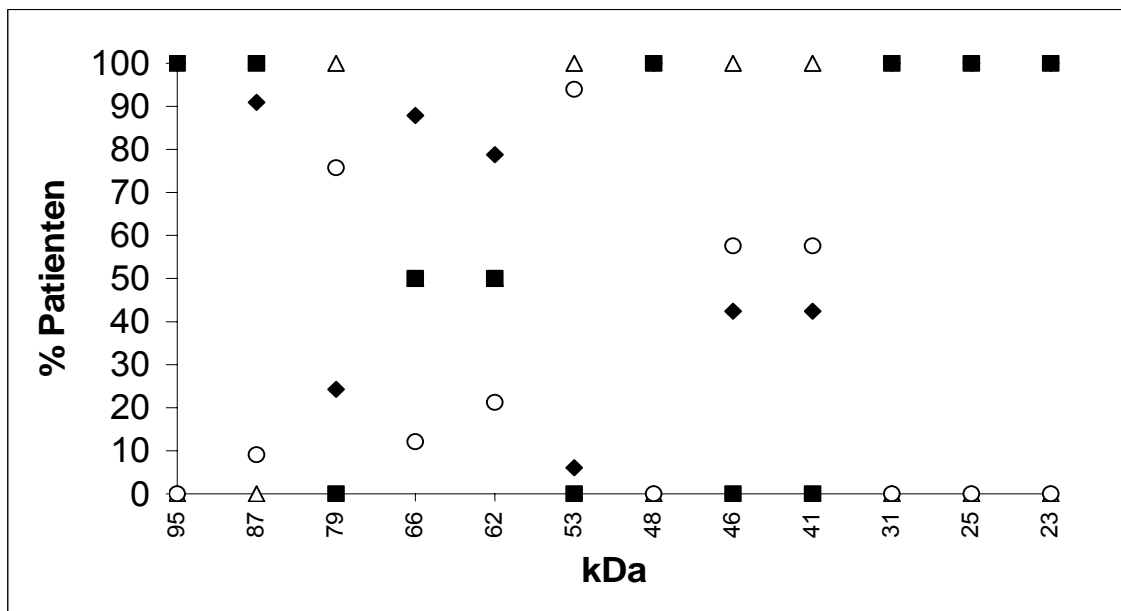


Abb. 11 IgA-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; △ = *P.i.* positiv / AK positiv. Prozentuale Verteilung der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

Insgesamt zeigte sich die Frequenz der IgA-Antikörperreaktivität gegen die Antigene nach IgG und IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten mit am stärksten ausgeprägt. Neben der fehlenden Antikörperreaktivität gegen 25-kDa und 23-kDa schweren Antigene, konnte jeweils in der intraoralen und in der subgingivalen Kolonisation sowie in Phase I und IV eine Antikörperreaktivität der Patienten (3-23%) gegen 95-kDa, 87-kDa, 48-kDa und 31-kDa festgestellt werden. Bei denjenigen Patienten, die irgendwann im Untersuchungszeitraum eine intraorale Kolonisation mit *P. intermedia* aufwiesen (13 von 35 Patienten), konnte eine IgA-Antikörperreaktivität gegen das 79-kDa (100% der *P. i.* positiven Patienten), 53-kDa (85% der *P. i.* positiven Patienten) und das 46-kDa (70% der *P. i.* positiven Patienten) schwere Antigen detektiert werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgA-Antikörperreaktivitäten erbrachte jedoch keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 50%, die maximale Spezifität bei 91% (Tab. 2, Seite 29, Abb. 10 und 11, Seite 30).

#### **4.3.1.2.2 IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten**

Die IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella intermedia* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle untersuchten Antigene, außer gegen das 95-kDa, 66-kDa, 31-kDa, 25-kDa und 23-kDa schwere Antigen gerichtet (Tab. 3, Abb. 12 und 13, Seite 32-34). Insgesamt zeigte sich die Frequenz der IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität zusammen mit der IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivität am schwächsten ausgeprägt. Neben der fehlenden Antikörperreaktivität gegen 95-kDa, 66-kDa, 31-kDa, 25-kDa und 23-kDa schwere Antigene konnte besonders selten (bei 3-12% der Patienten) eine IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität gegen 87-kDa, 62-kDa, 53-kDa, 48-kDa und 41k-Da schwere Antigene detektiert werden. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase IV eine intraorale Kolonisation mit *P. intermedia* aufwiesen (13 von 35 Patienten), konnte bevorzugt eine IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 79-kDa (46% der *P. i.* positiven Patienten) und 46-kDa (46% der *P. i.* positiven Patienten) schwere Antigen festgestellt werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der

detektierten IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte jedoch keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 50%, die maximale Spezifität bei 97% (Tab. 3, Seite 33, Abb. 12 und 13, Seite 34).

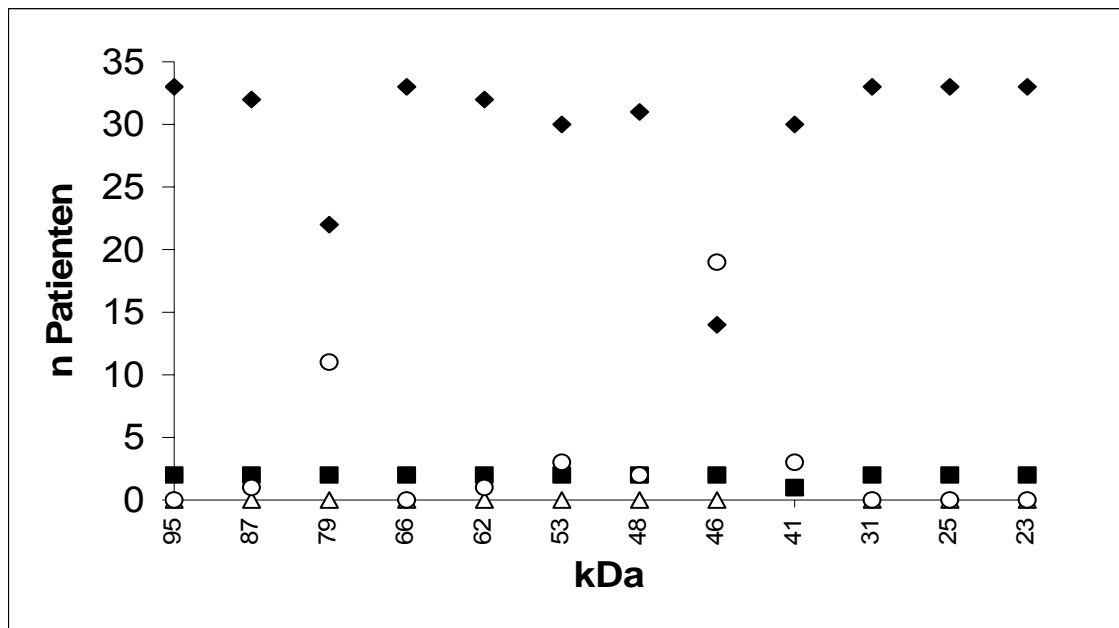


Abb. 12 IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Frequenz der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

			IgA <sub>1</sub> -Antikörperreaktivität gegen Antigen [kDa]												
			95	87	79	66	62	53	48	46	41	31	25	23	
Pat. Nr.	n MP	P.i. pos.													
3	0														
4	0														
6	0														
7	0														
9	0	■													
11	0	■													
12	0														
14	0														
18	0														
20	0														
2	1									+					
5	1				+										
10	1									+					
13	1									+					
16	1							+							
17	1														
24	1									+					
28	1								+						
29	1									+					
31	1									+					
33	1										+				
34	1	■									+				
35	1	■										+			
15	2				+					+					
19	2				+					+					
22	2									+					
23	2				+					+		+			
25	2				+					+					
30	2				+					+					
32	2								+	+					
1	3			+	+					+					
8	3				+					+		+			
21	3				+			+		+					
26	3				+			+		+					
27	3				+			+		+					
		P.i.pos.	AK pos.	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Summe:	2	AK neg.	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2
		P.i.neg.	AK pos.	0	1	11	0	1	3	2	19	3	0	0	0
Summe:	33	AK neg.	33	32	22	33	32	30	31	14	30	33	33	33	
		Sensitivität [%]		—	—	—	—	—	—	—	—	50	—	—	—
		Spezifität [%]		—	97	67	—	97	91	94	42	91	—	—	—
		P.i. pos. / Ak pos. [%]		—	—	—	—	—	—	—	—	50	—	—	—
		P.i. pos. / Ak neg. [%]		—	—	—	—	—	—	—	—	50	—	—	—
		P.i. neg. / Ak pos. [%]		—	3	33	—	3	9	6	58	9	—	—	—
		P.i. neg. / Ak neg. [%]		—	97	67	—	97	91	94	42	91	—	—	—

Tab. 3 Analyse der IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten in der Phase I gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia*. + = positive Antikörperreaktivität gegen entsprechendes Antigen ■ = subgingivaler Nachweis von *P. intermedia*. AK = Antikörperreaktivität gegen Antigen. n MP = Anzahl der Membranproteine gegen die Antikörperreaktivität nachgewiesen wurde.

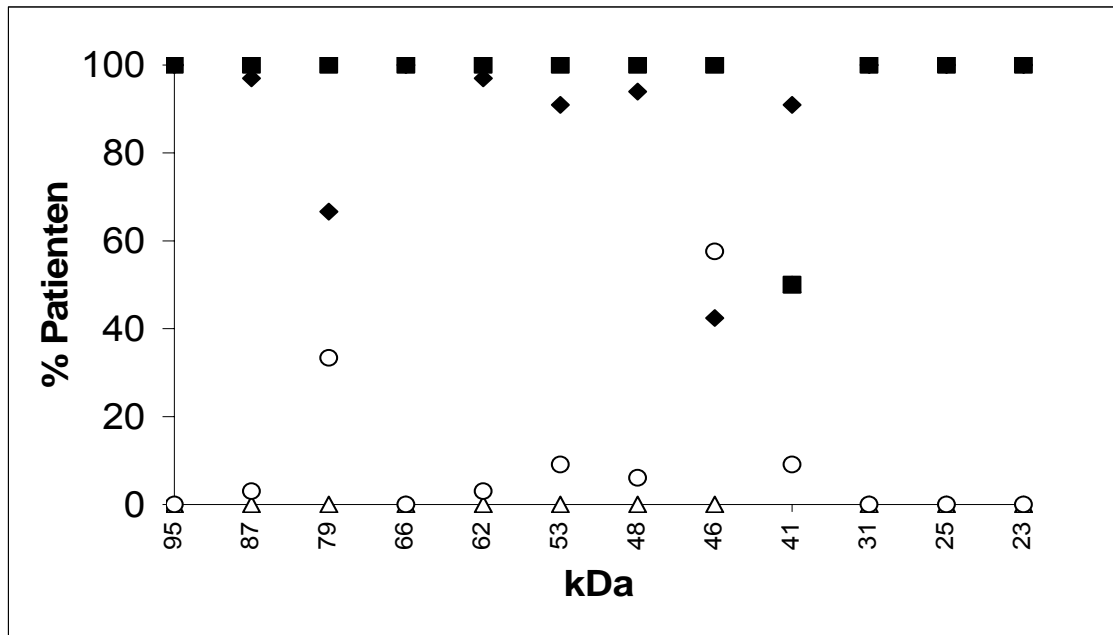


Abb. 13 IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Prozentuale Verteilung der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

#### 4.3.1.2.3 IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten

Die IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella intermedia* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in geringem unterschiedlichen Ausmaß vor allem gegen die 79-kDa und 41-kDa schweren Antigene gerichtet (Tab. 4, Seite 35, Abb. 14 und 15, Seite 36). Insgesamt war die Frequenz der IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivität gegen die restlichen Antigene im Vergleich zu den anderen untersuchten Antikörperklassenreaktivitäten am schwächsten ausgeprägt. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 50%, die maximale Spezifität bei 94% (Tab. 4, Seite 35, Abb. 14 und 15, Seite 36).



			IgA <sub>2</sub> -Antikörperreaktivität gegen Antigen [kDa]											
			95	87	79	66	62	53	48	46	41	31	25	23
Pat. Nr.	n MP	P.i. pos.												
2	0													
3	0													
4	0													
5	0													
6	0													
7	0													
9	0	■												
10	0	■												
11	0													
12	0													
13	0													
15	0													
16	0													
17	0													
18	0													
20	0													
21	0													
22	0													
23	0													
24	0													
25	0													
26	0													
27	0													
28	0													
30	0													
31	0													
32	0													
33	0													
35	0													
1	1				+									
14	1										+			
19	1				+									
29	1				+									
34	1	■			+									
8	2				+						+			
	P.i.pos.	AK pos.	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Summe:	2	AK neg.	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	P.i.neg.	AK pos.	0	0	4	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Summe:	33	AK neg.	33	33	29	33	33	33	33	33	31	33	33	33
	Sensitivität [%]		—	—	50	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Spezifität [%]		—	—	88	—	—	—	—	—	94	—	—	—
	P.i. pos. / Ak pos. [%]		—	—	50	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P.i. pos. / Ak neg. [%]		—	—	50	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	P.i. neg. / Ak pos. [%]		—	—	12	—	—	—	—	—	6	—	—	—
	P.i. neg. / Ak neg. [%]		—	—	88	—	—	—	—	—	94	—	—	—

Tab. 4 Analyse der IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten in der Phase I gegen äußere Membranproteine von P. intermedia. + = positive Antikörperreaktivität gegen entsprechendes Antigen ■ = subgingivaler Nachweis von P. intermedia. AK = Antikörperreaktivität gegen Antigen. n MP = Anzahl der Membranproteine gegen die Antikörperreaktivität nachgewiesen wurde.

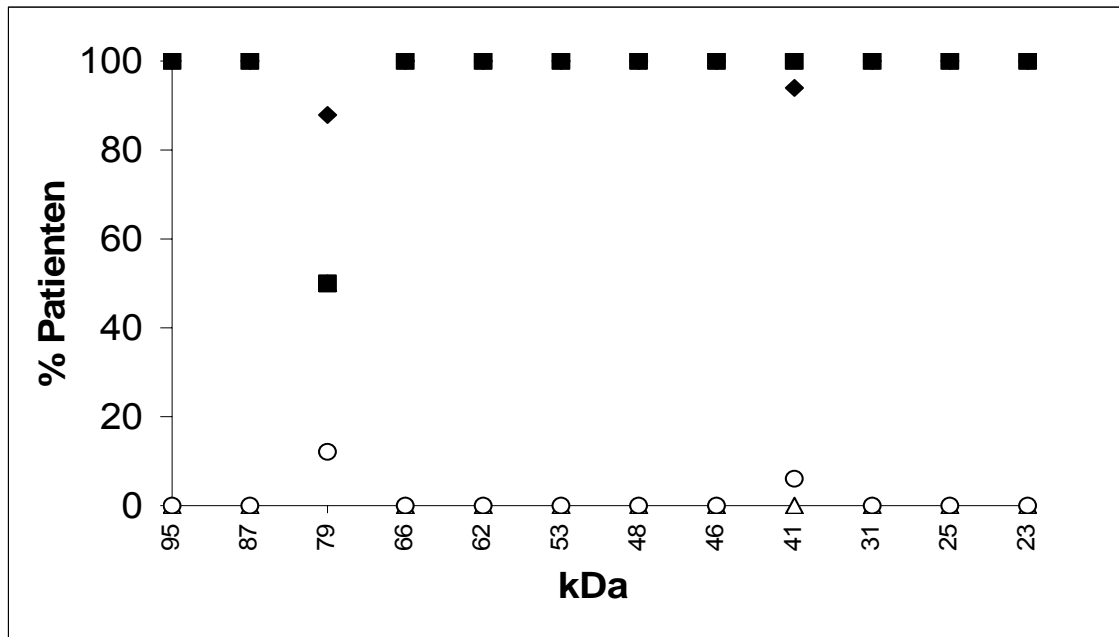


Abb. 14 IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Prozentuale Verteilung der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

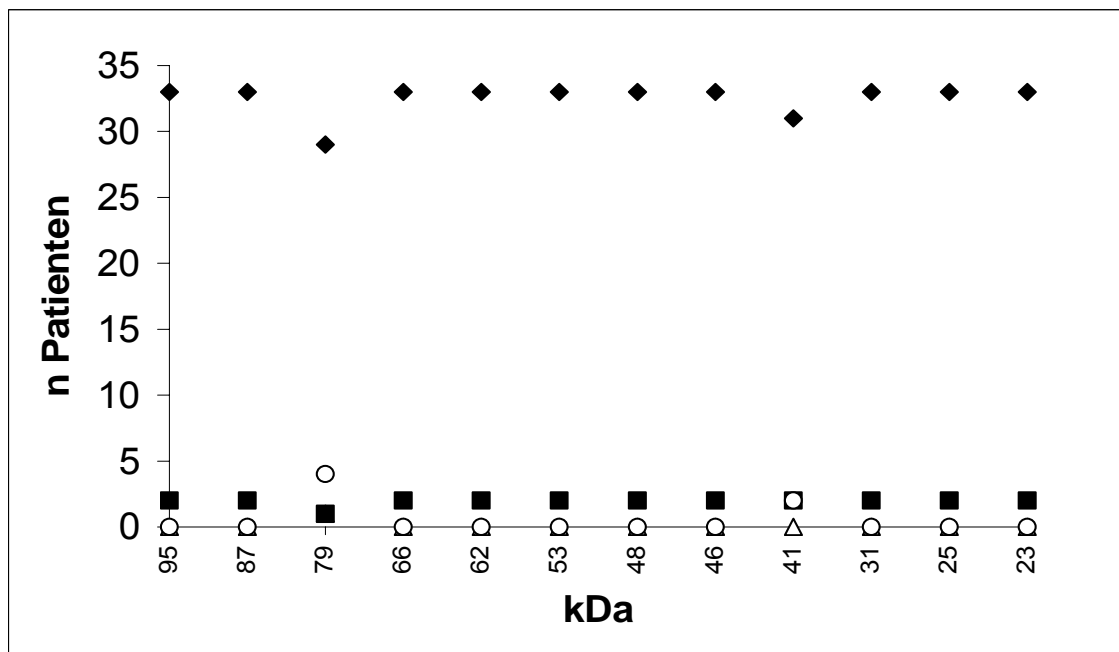


Abb. 15 IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Frequenz der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

#### 4.3.1.2.4 Gesamt-IgG-Antikörperreaktivitäten

Die Gesamt-IgG-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella intermedia* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle, außer gegen das 25-kDa und das 23-kDa schwere Antigen gerichtet (Tab. 5, Seite 38, Abb. 16 und 17, Seite 39). Insgesamt zeigte sich die Frequenz der IgG-Antikörperreaktivitäten gegen die restlichen Antigene als am stärksten ausgeprägt. Neben der fehlenden IgG-Antikörperreaktivität gegen die 25-kDa und 23-kDa schweren Antigene konnte bei 3-9% der Patienten eine IgG-Antikörperreaktivität gegen 95-kDa, 48-kDa und 31-kDa schwere Antigene detektiert werden. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase IV eine intraorale Kolonisation mit *Prevotella intermedia* aufwiesen (13 von 35 Patienten), konnte bevorzugt eine IgG-Antikörperreaktivität gegen das 79-kDa (100% der *Prevotella intermedia* positiven Patienten) und 53-kDa (85% der *Prevotella intermedia* positiven Patienten) schwere Antigen festgestellt werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 50%, die maximale Spezifität bei 97% (Tab. 5, Seite 38, Abb. 16 und 17, Seite 39).

			IgG-Antikörperreaktivität gegen Antigen [kDa]												
Pat. Nr.	n MP	P.i. pos.	95	87	79	66	62	53	48	46	41	31	25	23	
17	2				+					+					
19	2				+					+					
22	2				+			+							
23	2				+			+							
27	2				+					+					
33	2			+	+										
13	3				+	+				+					
15	3				+		+	+							
16	3				+			+		+					
18	3			+	+				+						
20	3			+			+		+						
21	3				+			+		+					
4	4			+	+		+			+					
8	4				+	+	+	+							
14	4				+	+		+		+					
25	4			+	+			+		+					
29	4				+			+		+	+				
32	4		+	+	+			+		+					
3	5				+	+	+	+		+					
5	5			+	+	+	+	+	+						
11	5				+	+	+	+		+					
24	5				+		+	+		+	+				
26	5			+	+	+		+		+					
28	5		+	+			+	+		+					
30	5			+	+			+		+	+				
34	5			+	+	+	+	+		+					
1	6			+	+	+	+	+		+					
6	6				+	+	+	+		+	+				
12	6			+	+	+	+	+		+					
35	6		+	+	+	+	+	+		+					
7	7			+	+	+	+	+		+	+				
9	7			+	+	+	+	+		+	+				
10	7			+	+	+	+	+		+	+				
31	7			+	+	+	+	+		+	+				
2	8			+	+	+	+	+		+	+	+			
		P.i.pos.	AK pos.	0	2	2	2	2	0	1	1	0	0	0	
Summe:		AK neg.	2	0	0	0	0	0	2	1	1	2	2	2	
		P.i.neg.	AK pos.	2	14	32	16	15	26	1	25	9	1	0	0
Summe:		AK neg.	31	19	1	17	18	7	32	8	24	32	33	33	
		Sensitivität [%]	—	—	—	—	—	—	—	50	50	—	—	—	
		Spezifität [%]	94	58	3	52	55	21	97	24	73	97	—	—	
		P.i. pos. / Ak pos. [%]	—	—	—	—	—	—	—	50	50	—	—	—	
		P.i. pos. / Ak neg. [%]	—	—	—	—	—	—	—	50	50	—	—	—	
		P.i. neg. / Ak pos. [%]	6	42	97	48	45	79	3	76	27	3	—	—	
		P.i. neg. / Ak neg. [%]	94	58	3	52	55	21	97	24	73	97	—	—	

Tab. 5 Analyse der IgG-Antikörperreaktivitäten in der Phase I gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia*. + = positive Antikörperreaktivität gegen entsprechendes Antigen ████ = subgingivaler Nachweis von *P. intermedia*. AK = Antikörperreaktivität gegen Antigen. n MP = Anzahl der Membranproteine gegen die Antikörperreaktivität nachgewiesen wurde.

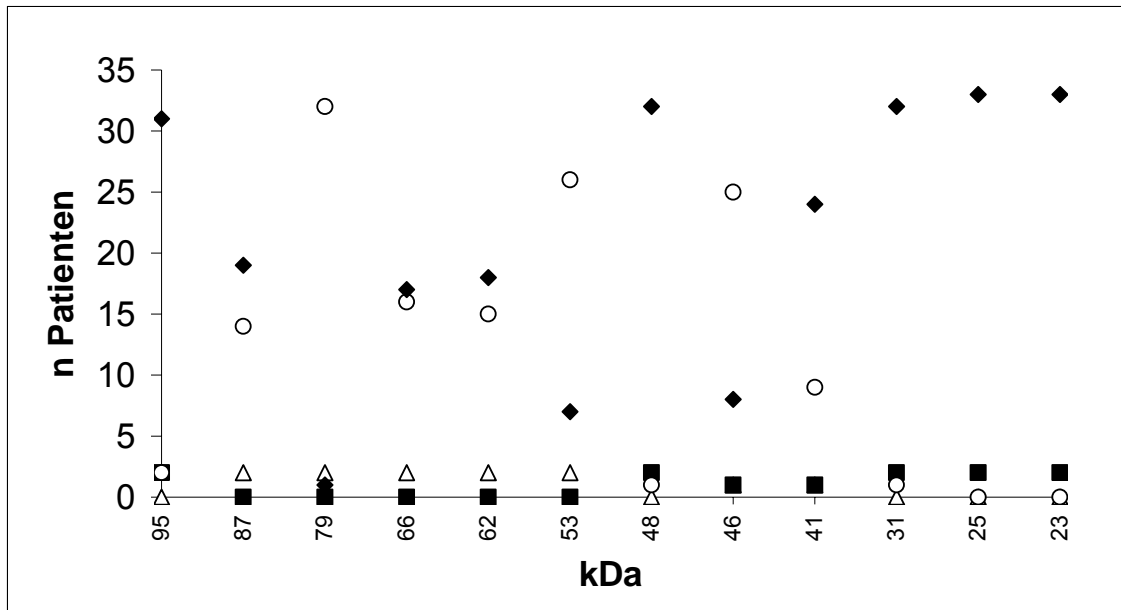


Abb. 16 IgG-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Frequenz der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

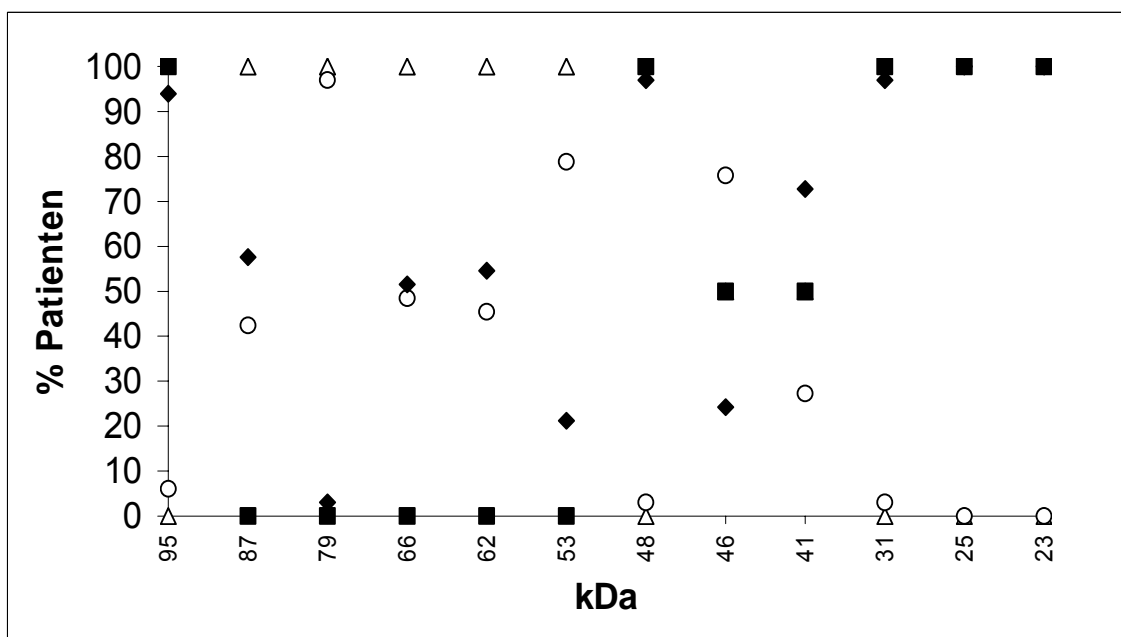


Abb. 17 IgG-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Prozentuale Verteilung der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

#### 4.3.1.2.5 IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten

Die IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella intermedia* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle, außer gegen das 95-kDa, 31-kDa, 25-kDa und das 23-kDa schwere Antigen gerichtet (Tab. 6, Seite 41, Abb. 18 und 19, Seite 42). Bei 3-9% der Patienten konnte eine IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität gegen die 87-kDa, 66-kDa, 62-kDa und 48-kDa schweren Antigene detektiert werden. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase IV eine intraorale Kolonisation mit *Prevotella intermedia* aufwiesen (13 von 35 Patienten), konnte bevorzugt eine IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 53-kDa (100% der *Prevotella intermedia* positiven Patienten) und 41-kDa (92%) schwere Antigen festgestellt werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der nachgewiesenen IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 50%, die maximale Spezifität bei 97% (Tab. 6, Seite 41, Abb. 18 und 19, Seite 42).

			IgG <sub>1</sub> -Antikörperreaktivität gegen Antigen [kDa]										
			95	87	79	66	62	53	48	41	31	25	23
Pat. Nr.	n MP	P.i. pos.											
1	0												
17	1							+					
29	1							+					
3	2							+			+		
6	2							+			+		
13	2							+			+		
14	2							+			+		
18	2							+			+		
20	2							+			+		
24	2							+			+		
25	2							+			+		
27	2							+			+		
28	2							+			+		
30	2							+			+		
31	2							+			+		
32	2							+			+		
34	2	■						+			+		
35	2	■						+			+		
15	3				+			+			+		
16	3				+			+		+			
19	3				+			+			+		
22	3				+			+			+		
23	3				+			+			+		
26	3				+			+		+			
33	3				+			+			+		
2	4				+			+		+	+		
4	4				+			+		+	+		
5	4						+	+		+	+		
7	4				+			+		+	+		
8	4				+			+		+	+		
11	4				+			+		+	+		
12	4				+			+		+	+		
21	4				+			+		+	+		
9	5	■		+	+			+		+	+		
10	5	■				+	+	+		+	+		
Summe:	2	P.i.pos. AK pos.	0	1	1	0	0	2	0	1	2	0	0
		AK neg.	2	1	1	2	2	0	2	1	0	2	2
Summe:	33	P.i.neg. AK pos.	0	0	14	1	2	32	1	10	28	0	0
		AK neg.	33	33	19	32	31	1	32	23	5	32	32
		Sensitivität [%]	—	50	50	—	—	—	—	50	—	—	—
		Spezifität [%]	—	—	58	97	94	3	97	70	15	—	—
		P.i. pos. / Ak pos. [%]	—	50	50	—	—	—	—	50	—	—	—
		P.i. pos. / Ak neg. [%]	—	50	50	—	—	—	—	50	—	—	—
		P.i. neg. / Ak pos. [%]	—	—	42	3	6	97	3	30	85	—	—
		P.i. neg. / Ak neg. [%]	—	—	58	97	94	3	97	70	15	97	97

Tab. 6 Analyse der IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten in der Phase I gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia*. + = positive Antikörperreaktivität gegen entsprechendes Antigen ■ = subgingivaler Nachweis von *P. intermedia*. AK = Antikörperreaktivität gegen Antigen. n MP = Anzahl der Membranproteine gegen die Antikörperreaktivität nachgewiesen wurde.

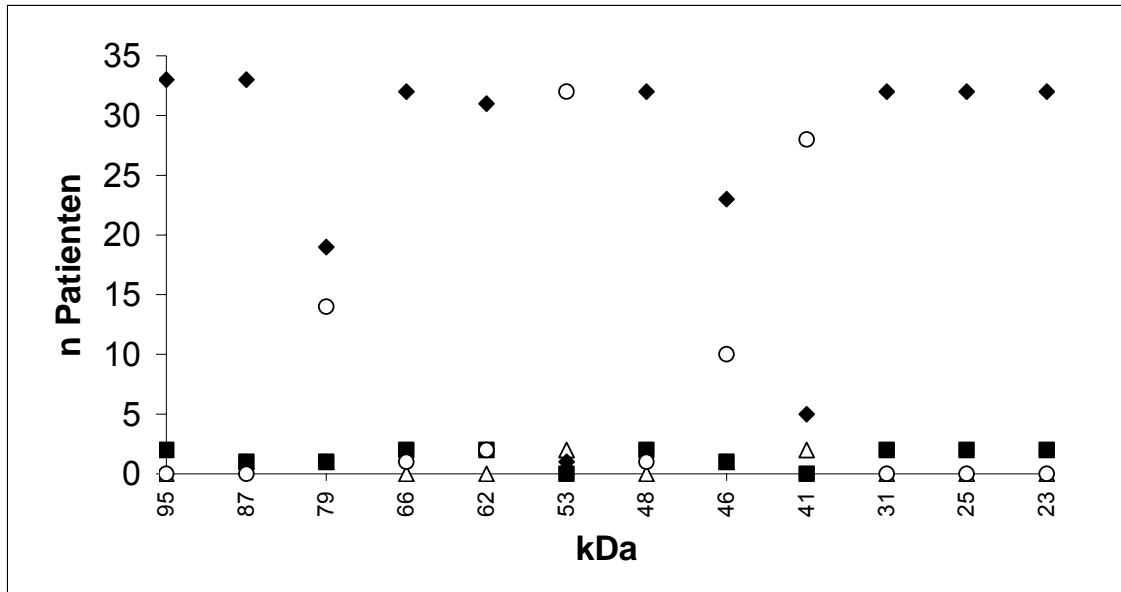


Abb. 18 IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Frequenz der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

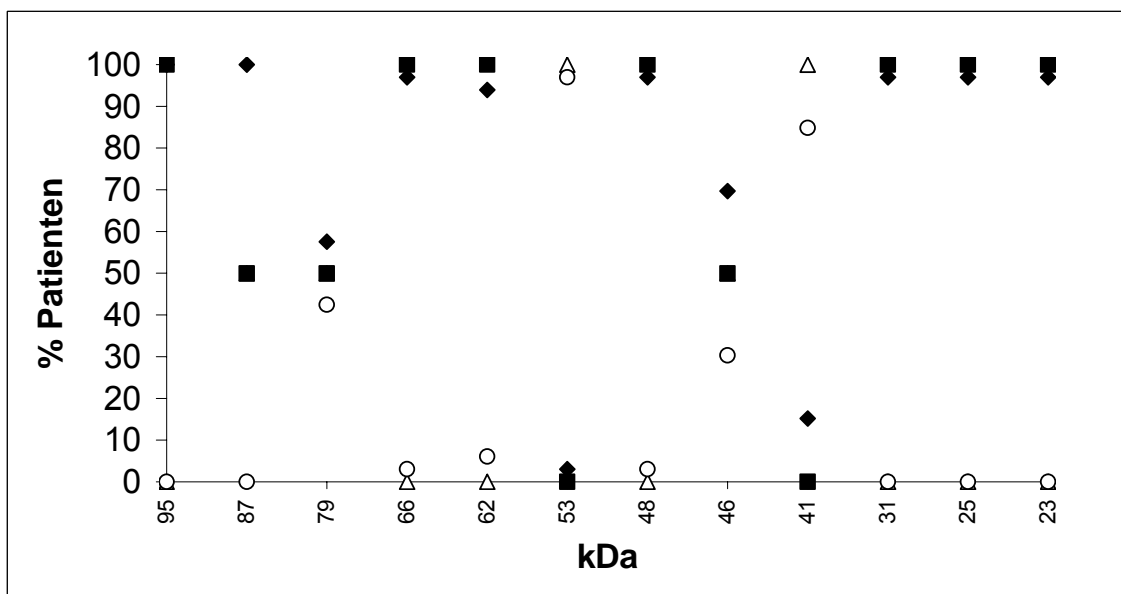


Abb. 19 IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Prozentuale Verteilung der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.



#### 4.3.1.2.6 IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten

Die IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella intermedia* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle, außer gegen das 25-kDa und das 23-kDa schwere Antigen gerichtet (Tab. 7, Seite 44, Abb. 20 und 21, Seite 45). Bei nur 3-12% der untersuchten Patienten konnte eine IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 95-kDa, 48-kDa und 31-kDa schwere Antigen nachgewiesen werden. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase IV eine intraorale Kolonisation mit *Prevotella intermedia* aufwiesen (13 von 35 Patienten), konnte bevorzugt eine IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivität gegen die 79-kDa (92% der *Prevotella intermedia* positiven Patienten), 53-kDa (85% der *Prevotella intermedia* positiven Patienten), 87-kDa (69% der *Prevotella intermedia* positiven Patienten) und 46-kDa (69% der *Prevotella intermedia* positiven Patienten) schweren Membranproteine detektiert werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 50%, die maximale Spezifität bei 97% (Tab. 7, Seite 44, Abb. 20 und 21, Seite 45)

			IgG <sub>2</sub> -Antikörperreaktivität gegen Antigen [kDa]												
			95	87	79	66	62	53	48	46	41	31	25	23	
Pat. Nr.	n MP	P.i. pos.													
18	2				+					+					
14	3				+			+		+					
15	3				+			+			+				
17	3				+			+		+					
19	3				+			+		+					
21	3				+			+			+				
22	3				+			+		+					
23	3				+			+		+					
24	3		+				+			+					
29	3				+			+		+					
3	4				+			+		+	+				
16	4			+	+			+							
20	4				+			+		+	+				
25	4			+	+			+		+					
27	4				+			+		+					
28	4				+			+	+		+				
30	4				+			+		+	+				
32	4		+	+	+			+							
33	4			+	+		+								
4	5				+			+		+	+				
13	5				+		+	+		+					
26	5			+	+	+		+		+	+				
34	5			+	+			+		+	+				
1	6			+	+	+	+	+		+	+				
6	6				+	+	+	+		+	+				
8	6			+	+	+	+	+			+				
11	6			+	+			+		+	+				
12	6			+	+	+	+	+		+					
35	6		+	+	+	+	+	+							
5	7				+	+	+	+	+	+	+				
7	7			+	+	+	+	+		+	+				
10	7			+	+	+	+	+		+	+				
31	7			+	+	+	+	+		+	+				
2	8			+	+	+	+	+		+	+	+			
9	8			+	+	+	+	+	+	+	+				
		P.i.pos.	AK pos.	0	2	2	1	1	2	1	2	2	0	0	0
Summe:		AK neg.	2	0	0	1	1	0	1	0	0	2	2	2	
		P.i.neg.	AK pos.	3	14	32	14	17	29	3	24	15	1	0	0
Summe:		AK neg.	30	19	1	19	16	4	30	9	18	31	32	32	
		Sensitivität [%]	—	—	—	50	50	—	50	—	—	—	—	—	—
		Spezifität [%]	91	58	3	58	48	12	91	27	55	97	—	—	—
		P.i. pos. / Ak pos. [%]	—	—	—	50	50	—	50	—	—	—	—	—	—
		P.i. pos. / Ak neg. [%]	—	—	—	50	50	—	50	—	—	—	—	—	—
		P.i. neg. / Ak pos. [%]	9	42	97	42	52	88	9	73	45	3	—	—	—
		P.i. neg. / Ak neg. [%]	91	58	3	58	48	12	91	27	55	94	97	97	—

Tab. 7 Analyse der IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten in der Phase I gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia*. + = positive Antikörperreaktivität gegen entsprechendes Antigen █ = subgingivaler Nachweis von *P. intermedia*. AK = Antikörperreaktivität gegen Antigen. n MP = Anzahl der Membranproteine gegen die Antikörperreaktivität nachgewiesen wurde.

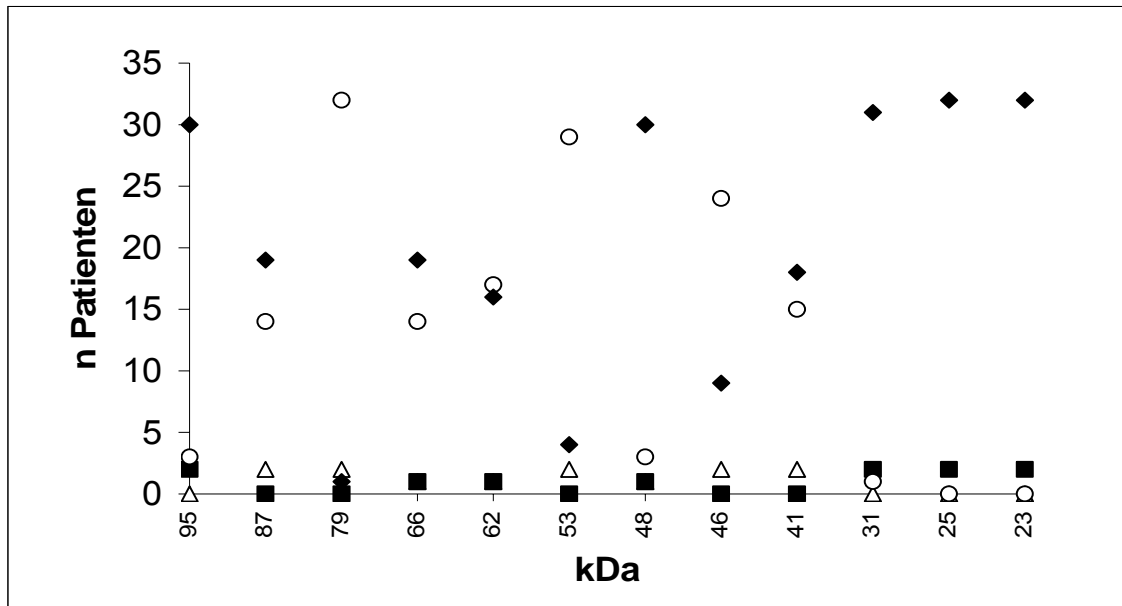


Abb. 20 IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Frequenz der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

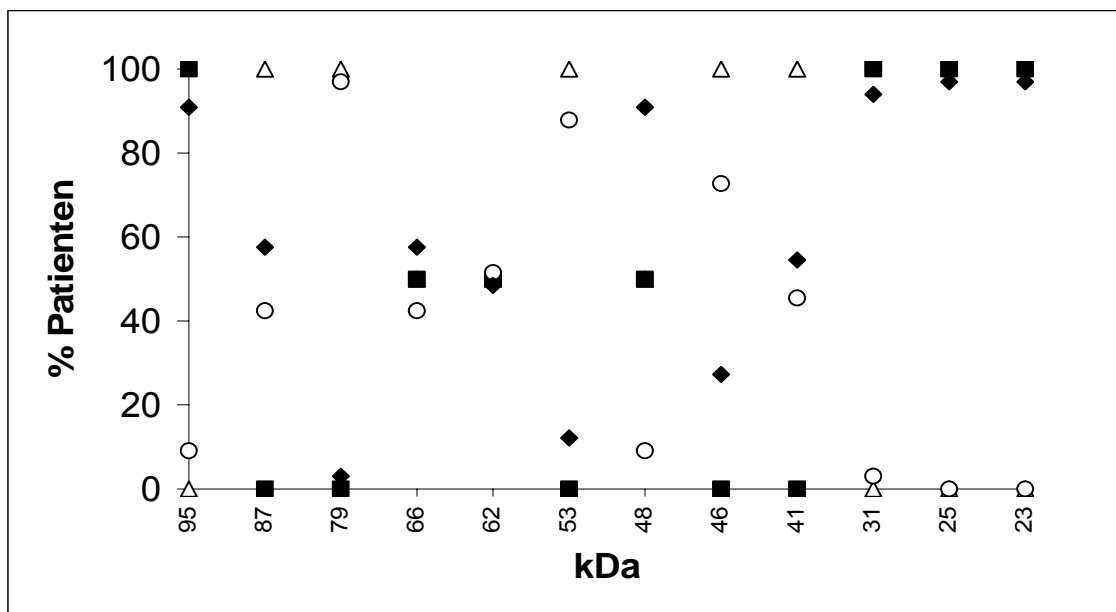


Abb. 21 IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Prozentuale Verteilung der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

#### 4.3.1.2.7 IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten

Die IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella intermedia* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle, außer gegen die 95-kDa, 48-kDa, 31-kDa, 25-kDa und 23-kDa schweren Antigene gerichtet (Tab. 8, Seite 47, Abb. 22 und 23, Seite 48). Bei nur 3-6% der untersuchten Patienten konnte eine IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivität gegen die 87-kDa, 66-kDa und 62-kDa schweren Antigene detektiert werden. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase IV eine intraorale Kolonisation mit *Prevotella intermedia* aufwiesen (13 von 35 Patienten), konnte bevorzugt eine IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 53-kDa (100% der *Prevotella intermedia* positiven Patienten), 41-kDa (100% der *P. i.* positiven Patienten) und das 79-kDa (69% der *P. i.* positiven Patienten) schwere Antigen nachgewiesen werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Spezifität lag bei 97%, die Sensitivität konnte nicht ermittelt werden (Tab. 8, Seite 47, Abb. 22 und 23, Seite 48).

			IgG <sub>3</sub> -Antikörperreaktivität gegen Antigen [kDa]												
Pat. Nr.	n MP	P.i. pos.	95	87	79	66	62	53	48	46	41	31	25	23	
17	1							+							
3	2							+			+				
12	2							+			+				
14	2							+			+				
18	2							+			+				
22	2							+			+				
23	2							+			+				
24	2							+			+				
25	2							+			+				
27	2							+			+				
28	2							+			+				
32	2							+			+				
33	2							+			+				
35	2							+			+				
8	3				+			+			+				
10	3				+			+			+				
15	3				+			+			+				
16	3				+			+		+					
19	3				+			+			+				
21	3				+			+			+				
26	3				+			+			+				
29	3				+			+			+				
30	3				+			+			+				
1	4				+			+		+	+				
2	4				+			+		+	+				
4	4				+			+		+	+				
6	4				+			+		+	+				
7	4				+			+		+	+				
9	4	■			+			+		+	+				
13	4	■				+	+	+		+	+				
20	4				+			+		+	+				
31	4				+			+		+	+				
34	4	■			+			+		+	+				
5	5				+			+		+	+				
11	5			+	+			+		+	+				
		P.i.pos.	AK pos.	0	0	2	0	0	2	0	2	2	0	0	0
Summe:		AK neg.	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	
		P.i.neg.	AK pos.	0	1	18	1	2	33	0	10	31	0	0	0
Summe:	33	AK neg.	33	32	15	32	31	0	33	23	2	33	33	33	
		Sensitivität [%]	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Spezifität [%]	—	97	45	97	94	—	—	70	6	—	—	—	—
		P.i. pos. / Ak pos. [%]	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		P.i. pos. / Ak neg. [%]	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		P.i. neg. / Ak pos. [%]	—	3	55	3	6	—	—	30	94	—	—	—	—
		P.i. neg. / Ak neg. [%]	—	97	45	97	94	—	—	70	6	—	—	—	—

Tab. 8 Analyse der IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten in der Phase I gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia*. + = positive Antikörperreaktivität gegen entsprechendes Antigen ■ = subgingivaler Nachweis von *P. intermedia*. AK = Antikörperreaktivität gegen Antigen. n MP = Anzahl der Membranproteine gegen die Antikörperreaktivität nachgewiesen wurde.

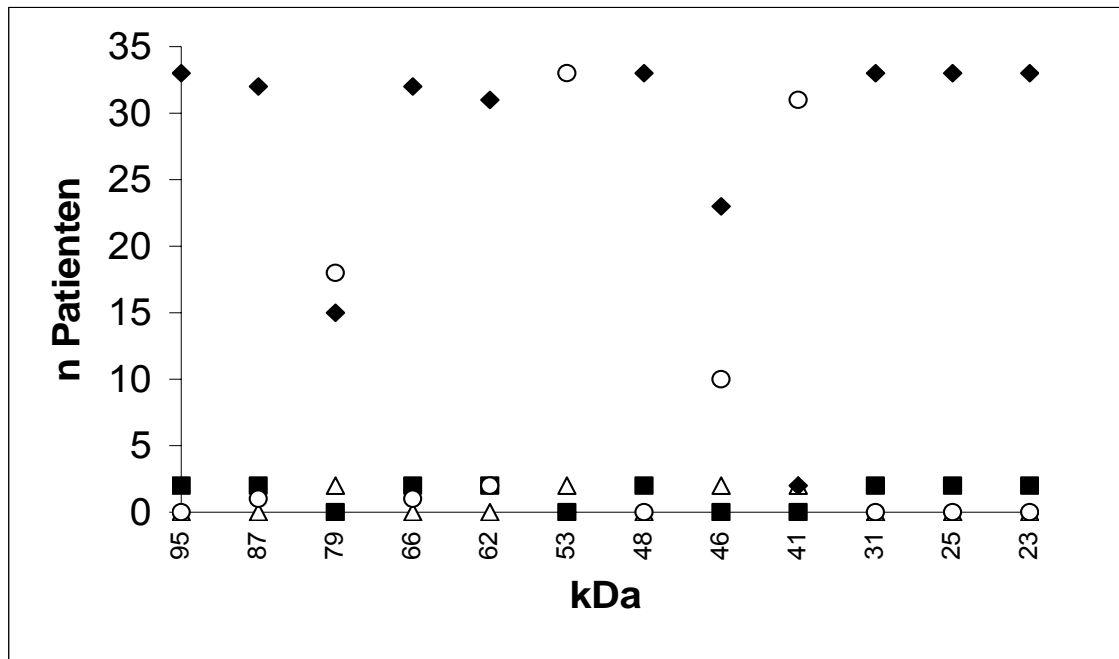


Abb. 22 IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Frequenz der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

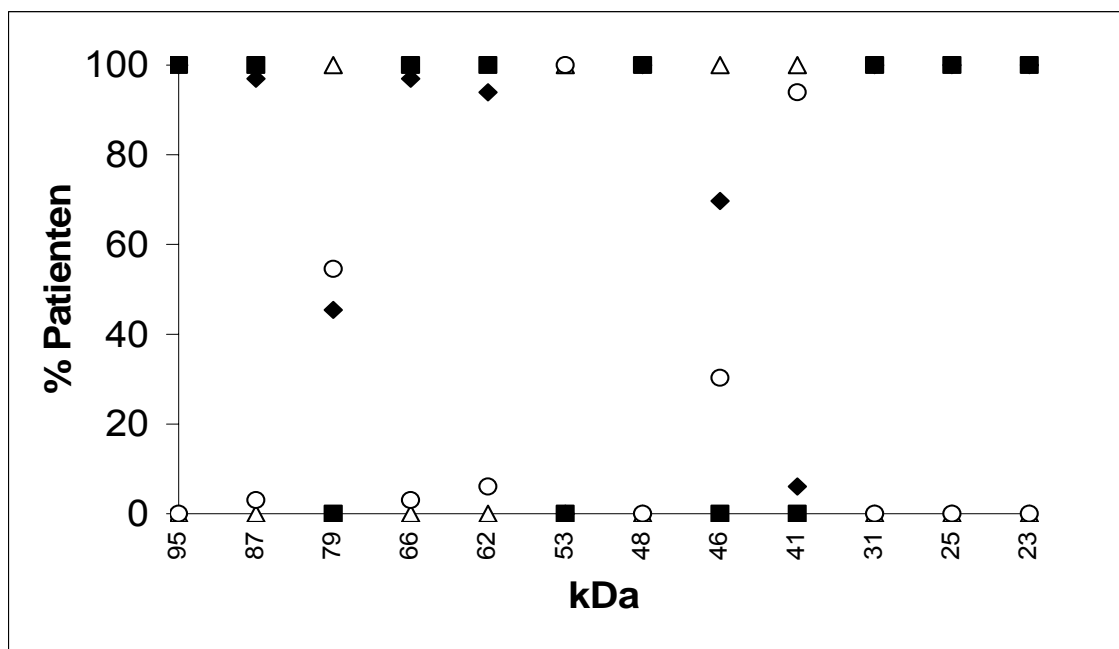


Abb. 23 IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Prozentuale Verteilung der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

#### 4.3.1.2.8 IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten

Die IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella intermedia* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle, außer gegen die 95-kDa, 87-kDa, 66-kDa, 62-kDa, 31-kDa, 25-kDa und 23-kDa schweren Antigene gerichtet (Tab. 9, Seite 50, Abb. 24 und 25, Seite 51). Bei nur 3-6% der Patienten konnte eine IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 48-kDa schwere Antigen nachgewiesen werden. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase IV eine intraorale Kolonisation mit *Prevotella intermedia* aufwiesen (13 von 35 Patienten), konnte bevorzugt eine IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 53-kDa (100% der *Prevotella intermedia* positiven Patienten) schwere Membranprotein detektiert werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 50%, die maximale Spezifität bei 97% (Tab. 9, Seite 50, Abb. 24 und 25, Seite 51)

			IgG <sub>4</sub> -Antikörperreaktivität gegen Antigen [kDa]												
			95	87	79	66	62	53	48	46	41	31	25	23	
Pat. Nr.	n MP	P.i. pos.													
3	2							+			+				
5	2							+			+				
6	2							+			+				
7	2							+			+				
8	2							+			+				
13	2							+			+				
14	2							+			+				
15	2							+			+				
18	2							+			+				
21	2			+				+							
22	2							+			+				
23	2							+			+				
24	2							+			+				
25	2							+			+				
28	2							+			+				
30	2							+			+				
32	2							+			+				
34	2							+			+				
35	2							+			+				
16	3			+				+		+					
17	3			+				+		+					
19	3			+				+			+				
27	3			+				+			+				
31	3			+				+			+				
33	3			+				+			+				
1	4			+				+		+	+				
2	4			+				+		+	+				
4	4			+				+		+	+				
11	4			+				+		+	+				
12	4			+				+		+	+				
20	4			+				+		+	+				
26	4			+				+		+	+				
29	4			+				+		+	+				
9	5			+				+	+	+	+				
10	5			+				+	+	+	+				
		P.i.pos.	AK pos.	0	0	1	0	0	2	1	1	2	0	0	0
Summe:			AK neg.	2	2	1	2	2	0	1	1	0	2	2	2
		P.i.neg.	AK pos.	0	0	16	0	0	33	1	11	30	0	0	0
Summe:			AK neg.	33	33	17	33	33	0	32	22	3	33	33	33
			Sensitivität [%]	—	—	50	—	—	—	50	50	—	—	—	—
			Spezifität [%]	—	—	52	—	—	—	97	67	9	—	—	—
			P.i. pos. / Ak pos. [%]	—	—	50	—	—	—	50	50	—	—	—	—
			P.i. pos. / Ak neg. [%]	—	—	50	—	—	—	50	50	—	—	—	—
			P.i. neg. / Ak pos. [%]	—	—	48	—	—	—	3	33	91	—	—	—
			P.i. neg. / Ak neg. [%]	—	—	52	—	—	—	97	67	9	—	—	—

Tab. 9 Analyse der IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten in der Phase I gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia*. + = positive Antikörperreaktivität gegen entsprechendes Antigen ████ = subgingivaler Nachweis von *P. intermedia*. AK = Antikörperreaktivität gegen Antigen. n MP = Anzahl der Membranproteine gegen die Antikörperreaktivität nachgewiesen wurde.



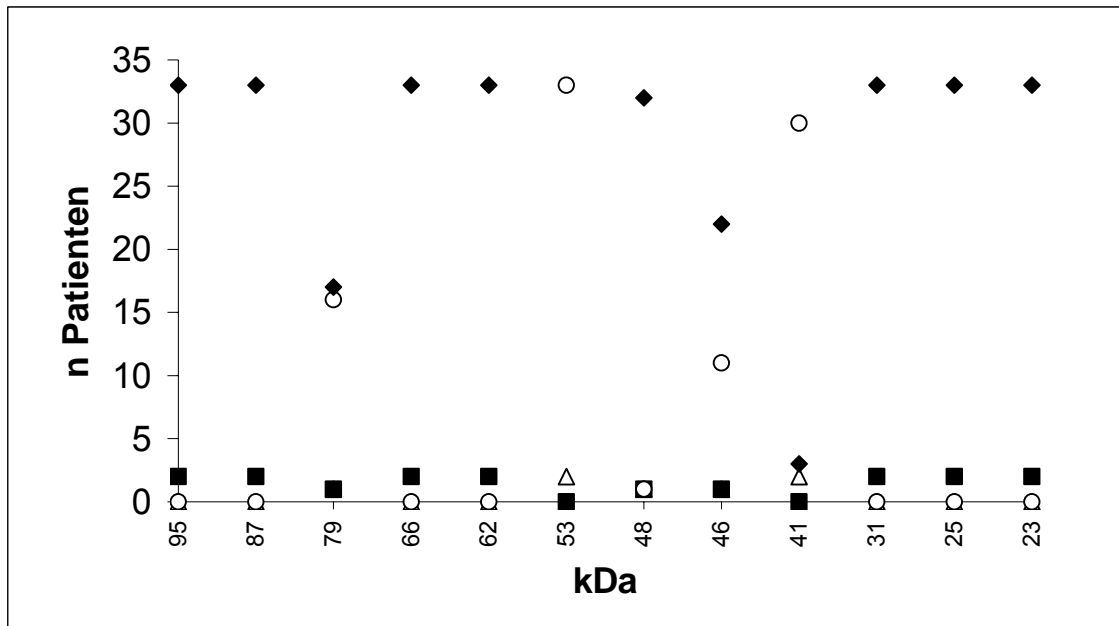


Abb. 24 IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Frequenz der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

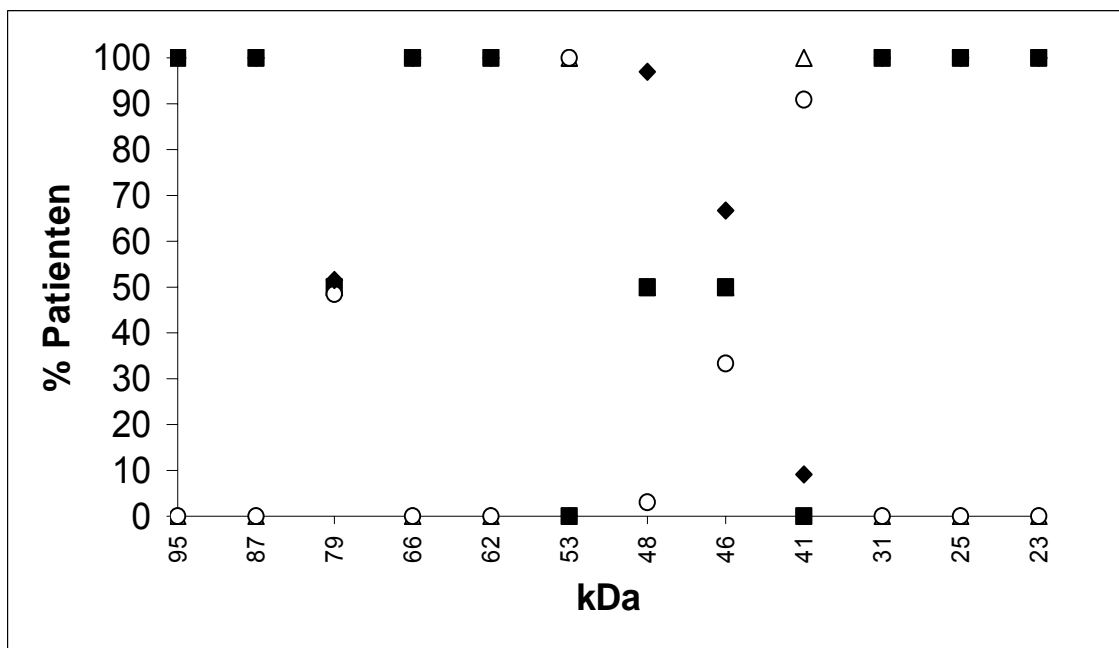


Abb. 25 IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *P. intermedia* in der Phase I bei subgingivaler Kolonisation nach folgenden Gruppen: ◆ = *P.i.* negativ / AK negativ; ○ = *P.i.* negativ / AK positiv; ■ = *P.i.* positiv / AK negativ; □ = *P.i.* positiv / AK positiv. Prozentuale Verteilung der Antikörperreaktivitäten im Patientenkollektiv.

### **4.3.2 *Prevotella nigrescens***

#### **4.3.2.1 IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>-**

##### **Antikörperreaktivitäten gegen *Prevotella nigrescens***

Die Serumproben der Patienten zeigten IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivität gegen bis zu zehn unterschiedliche *Prevotella nigrescens* Antigene (95-kDa, 84-kDa, 78-kDa, 72-kDa, 65-kDa, 59-kDa, 52-kDa, 47-kDa, 43-kDa und 40-kDa), wobei jeder Patient nahezu immer eine IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivität gegen ein ca. 47-kDa schweres Antigen (Hauptantigen) von *Prevotella nigrescens* aufwies.

#### **4.3.2.2 Analyse der gegen äußere Membranproteine von *Prevotella nigrescens* gerichteten IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten und Korrelation mit der intraoralen und subgingivalen *Prevotella nigrescens*-Kolonisation**

##### **4.3.2.2.1 IgA-Antikörperreaktivitäten**

Die IgA-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella nigrescens* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle untersuchten Antigene gerichtet. Neben der fehlenden Antikörperreaktivität gegen die 25-kDa und 23-kDa schweren Antigene, konnte bei nur 3-17% der Patienten eine IgA-Antikörperreaktivität gegen die 95-kDa, 78-kDa, 72-kDa, 65-kDa, 59-kDa, 52-kDa und 40-kDa schweren Antigene festgestellt werden. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase IV eine subgingivale oder intraorale Kolonisation mit *P. nigrescens*

aufwiesen (22 und 33 Patienten von 35 Patienten), konnte eine IgA-Antikörperreaktivität gegen das 47-kDa (91% und 94% der *P. nigrescens* positiven Patienten) schwere Antigen festgestellt werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgA-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 50%, die maximale Spezifität bei 97%.

#### **4.3.2.2.2 IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten**

Die IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella nigrescens* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle, außer gegen das 72-kDa und das 40-kDa schwere Antigen gerichtet. Bei nur 3-14% der untersuchten Patienten konnte eine IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität gegen die 95-kDa, 78-kDa, 65-kDa, 52-kDa und 43-kDa schweren Antigene detektiert werden. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase IV eine intraorale oder subgingivale Kolonisation mit *Prevotella nigrescens* aufwiesen (22 und 33 Patienten von 35 Patienten), konnte eine IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 47-kDa (95% und 94% der *P. nigrescens* positiven Patienten) schwere Membranprotein festgestellt werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der gezeigten IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 25%, die maximale Spezifität bei 97%.

#### 4.3.2.2.3 IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten

Die IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella nigrescens* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in geringem unterschiedlichem Ausmaß gegen die 84-kDa, 52-kDa, 47-kDa und 43-kDa schweren Antigene gerichtet. Insgesamt zeigte sich die Frequenz der IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivität gegen die restlichen Antigene im Vergleich zu anderen Antikörperreaktivitäten am schwächsten ausgeprägt. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 25%, die maximale Spezifität bei 97%.

#### 4.3.2.2.4 Gesamt-IgG-Antikörperreaktivitäten

Die IgG-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella nigrescens* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle untersuchten Antigene gerichtet. Insgesamt zeigte sich, dass die Frequenz der IgG-Antikörperreaktivitäten gegen die untersuchten Antigene am stärksten ausgeprägt war. Bei nur 3-23% der untersuchten Patienten konnte eine IgG-Antikörperreaktivität gegen die 78-kDa, 65-kDa, 59-kDa und 40-kDa schweren Antigene detektiert werden. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase IV eine intraorale oder subgingivale Kolonisation mit *Prevotella nigrescens* aufwiesen (33 bzw. 22 von 35 Patienten), konnte eine IgG-Antikörperreaktivität gegen das 84-kDa (95% bzw. 97% der *Prevotella nigrescens* positiven Patienten) und 47-kDa (91% bzw. 94% der *Prevotella nigrescens* positiven Patienten) schwere Antigen festgestellt werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 75%, die maximale Spezifität bei 97%.

#### 4.3.2.2.5 IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten

Die IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella nigrescens* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle, außer gegen das 65-kDa schwere Antigen gerichtet. Bei nur 3-20% der Patienten konnte eine IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität gegen die 95-kDa, 78-kDa, 72-kDa, 59-kDa und 40-kDa schweren Antigene detektiert werden. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase IV eine intraorale oder subgingivale Kolonisation mit *Prevotella nigrescens* aufwiesen (33 bzw. 22 von 35 Patienten), konnte bevorzugt eine IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 47-kDa (85% der intraoral bzw. 77% der subgingival *Prevotella nigrescens* positiven Patienten) schwere Antigen festgestellt werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 75%, die maximale Spezifität bei 97%.

#### 4.3.2.2.6 IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten

Die IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella nigrescens* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle untersuchten Antigene gerichtet. Bei nur 3-23% der untersuchten Patienten zeigte sich eine IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivität gegen die 95-kDa, 78-kDa, 72-kDa, 65-kDa, 59-kDa und 40-kDa schweren Antigene. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase IV eine intraorale oder subgingivale Kolonisation mit *Prevotella nigrescens* aufwiesen (33 bzw. 22 von 35 Patienten), konnte bevorzugt eine IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 84-kDa (94% der intraoral bzw. 95% der sugingival *Prevotella nigrescens* positiven Patienten), 52-kDa (70% der intraoral bzw. 64% der sugingival *P. n.* positiven Patienten) und 47-kDa (91% der intraoral bzw. 86% der sugingival *P. n.* positiven Patienten) schwere Antigen detektiert werden. Die Berechnung

der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 75%, die maximale Spezifität bei 94%.

#### **4.3.2.2.7 IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten**

Die IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella nigrescens* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle untersuchten Antigene gerichtet. Bei nur 3-21% der untersuchten Patienten zeigte sich eine IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 78-kDa, 65-kDa und 59-kDa schwere Antigen. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase IV eine intraorale oder subgingivale Kolonisation mit *Prevotella nigrescens* aufwiesen (33 bzw. 22 von 35 Patienten), konnte bevorzugt eine IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 84-kDa (83% der introral bzw. 73% der subgingival *Prevotella nigrescens* positiven Patienten) und 47-kDa (82% der *P. i.* positiven Patienten) schwere Antigen detektiert werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 75%, die maximale Spezifität bei 97%.

#### **4.3.2.2.8 IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten**

Die IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Prevotella nigrescens* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle, außer gegen das 78-kDa und 65-kDa schwere Antigen gerichtet. Bei 6-12% der untersuchten Patienten konnte eine IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivität gegen die 95-kDa, 72-kDa, 59-kDa und 40-kDa schweren Antigene detektiert werden. Bei denjenigen Patienten, die in der

Phase IV eine intraorale oder subgingivale Kolonisation mit *Prevotella nigrescens* aufwiesen (33 oder 22 von 35 Patienten), konnte eine IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 47-kDa (73% der *Prevotella nigrescens* positiven Patienten) schwere Antigen detektiert werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 75%, die maximale Spezifität bei 94%.

### **4.3.3 *Tannerella forsythensis***

#### **4.3.3.1 IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>- Antikörperreaktivitäten gegen *Tannerella forsythensis***

Die Serumproben der Patienten zeigten IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivität gegen bis zu neun unterschiedliche *Tannerella forsythensis* Antigene (102-kDa, 96-kDa, 75-kDa, 68-kDa, 64-kDa, 58-kDa, 56-kDa, 43-kDa und 34-kDa), wobei die meisten Patienten gegen ein ca. 68-kDa Antigen (Hauptantigen) von *Tannerella forsythensis* Antikörperreaktivitäten aufwiesen.

#### **4.3.3.2 Analyse der gegen äußere Membranproteine von *Tannerella forsythensis* gerichteten IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten und Korrelation mit der intraoralen und subgingivalen *Tannerella forsythensis*-Kolonisation**

##### **4.3.3.2.1 IgA-Antikörperreaktivitäten**

Die IgA-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Tannerella forsythensis* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle untersuchten Antigene gerichtet. Bei nur 3-12% der untersuchten Patienten konnte eine IgA-Antikörperreaktivität gegen die 102-kDa, 96-kDa und 64-kDa schweren Antigene detektiert werden. Bei denjenigen Patienten, die zu Therapiebeginn eine subgingivale oder intraorale Kolonisation mit *Tannerella forsythensis* aufwiesen (17 bzw. 21 von 35 Patienten), konnte eine IgA-Antikörperreaktivität gegen das 68-kDa (29% der intraoral bzw. 38% der subgingival *Tannerella forsythensis* positiven Patienten) detektiert werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgA-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 29%, die maximale Spezifität bei 94%.

##### **4.3.3.2.2 IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten**

Die IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Tannerella forsythensis* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle, außer gegen das 64-kDa und das 34-kDa schwere Antigen gerichtet. Bei 3-20% der Patienten konnte eine IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität gegen die 102-kDa, 96-kDa, 75-kDa und 56-kDa schweren Antigene detektiert werden. Bei denjenigen Patienten, die in der



Phase IV eine intraorale Kolonisation mit *Tannerella forsythensis* aufwiesen (25 Patienten von 35 Patienten), konnte eine IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 68-kDa, 58-kDa sowie das 43-kDa (36% der *Tannerella forsythensis* positiven Patienten) schwere Antigen festgestellt werden. Wohingegen bei einer subgingivalen Kolonisation mit *Tannerella forsythensis* (24 Patienten) in der Phase IV lediglich bei 43-kDa und 68-kDa (37% der *Tannerella forsythensis* positiven Patienten) eine IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität zu verzeichnen war. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgA<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 29%, die maximale Spezifität bei 94%.

#### **4.3.3.2.3 IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten**

Insgesamt konnten, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, keine IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Tannerella forsythensis* nachgewiesen werden.

#### **4.3.3.2.4 IgG-Antikörperreaktivitäten**

Die IgG-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Tannerella forsythensis* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle untersuchten Antigene gerichtet. Insgesamt zeigte sich die Frequenz der IgG-Antikörperreaktivitäten gegen die untersuchten Antigene am stärksten ausgeprägt. Besonders selten konnte eine IgG-Antikörperreaktivität gegen die 102-kDa, 64-kDa und 34-kDa schweren Antigene (bei 3-17% der Patienten) detektiert werden. Bei denjenigen Patienten, die in der Phase I eine intraorale oder subgingivale Kolonisation mit *Tannerella forsythensis* aufwiesen (21 bzw 17 von 35 Patienten), konnte bevorzugt eine IgG-Antikörperreaktivität gegen das 68-kDa (72% der intraoral bzw. 75% der subgingival *Tannerella forsythensis* positiven Patienten) und 58-kDa (52% der intraoral bzw. 53% der subgingival *T. f.* positiven Patienten) schwere Antigen festgestellt werden. In der Phase IV zeigte sich bei intraoralen

oder subgingivalen Trägern von *Tannerella forsythensis* (25 bzw 24 Patienten) eine IgG-Antikörperreaktivität gegen das 68-kDa (75% der intraoral bzw 72% der subgingival *T. f.* positiven Patienten) und 96-kDa (52% der intraoral bzw. 54% der subgingival *T. f.* positiven Patienten) schwere Antigen. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 59%, die maximale Spezifität bei 89%.

#### **4.3.3.2.5 IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten**

Die IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Tannerella forsythensis* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, gegen fünf der neun Antigene (96-kDa, 68-kDa, 58-kDa, 56-kDa und 43-kDa) gerichtet. Neben der fehlenden IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivität gegen die 102-kDa, 75-kDa, 64-kDa und 34-kDa schweren Antigene konnte gegen die restlichen Antigene keine höheren IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten als 20% der intraoralen oder subgingivalen Träger von *Tannerella forsythensis* nachgewiesen werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG<sub>1</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 18%, die maximale Spezifität bei 94%.

#### **4.3.3.2.6 IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten**

Die IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Tannerella forsythensis* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle, außer gegen das 64-kDa und 34-kDa schwere Antigen gerichtet. Neben der fehlenden IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivität gegen das 64-kDa und 34-kDa schwere Antigen konnte bei 5-12% der Patienten eine IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivität gegen die 102-kDa, 58-kDa und 43-kDa schweren Antigene im Untersuchungszeitraum detektiert werden.

Gegen die restlichen Antigene konnten keine höheren IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten als 24% der intraoralen oder subgingivalen Träger von *Tannerella forsythensis* nachgewiesen werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 24%, die maximale Spezifität bei 94%.

#### **4.3.3.2.7 IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten**

Die IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Tannerella forsythensis* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle, außer gegen 102-kDa und 34-kDa schweren Antigene gerichtet. Gegen die restlichen Antigene konnten keine höheren IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten als 47% der intraoralen oder subgingivalen Träger von *Tannerella forsythensis* nachgewiesen werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG<sub>3</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 47%, die maximale Spezifität bei 94%.

#### **4.3.3.2.8 IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten**

Die IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten gegen äußere Membranproteine von *Tannerella forsythensis* waren, bezogen auf das gesamte Studienkollektiv, in unterschiedlichem Ausmaß gegen alle, außer gegen das 102-kDa, 64-kDa und 34-kDa schwere Antigen gerichtet. Gegen die restlichen Antigene konnten keine höheren IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten als 24% der intraoralen oder subgingivalen Träger von *Tannerella forsythensis* nachgewiesen werden. Die Berechnung der Sensitivität und Spezifität der detektierten IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten erbrachte keine für die Serodiagnostik relevanten Ergebnisse. Die maximale Sensitivität lag bei 12%, die maximale Spezifität bei 94%.

#### **4.4 Einfluss der gegen *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Prevotella nigrescens* (ATCC 33563) und *Tannerella forsythensis* (ATCC 43037) gerichteten IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub>-Antikörperreaktivitäten auf die Progredienz parodontaler Attachmentverluste**

Hinsichtlich der initialen subgingivalen und intraoralen Kolonisation bei Patienten mit *Prevotella intermedia* ATCC 25611, *Prevotella nigrescens* ATCC 33563 und *Tannerella forsythensis* ATCC 43037 und der initialen Antikörperreaktionen konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich des klinischen Funktionsstatus festgestellt werden. Fernerhin konnte auch beim Vergleich der Phase I (zu Therapiebeginn) mit der Phase IV (6 Monate später) keine hinreichend signifikante Abhängigkeit zwischen der Antikörperreaktivität, Infektion und Progredienz der Taschensondierungstiefen oder Blutung auf Sondierung hergestellt werden.

## 5 Diskussion

Antikörper sind die zentralen Bestandteile der humoralen Immunabwehr, sie werden von Plasmazellen sezerniert und finden sich auf der Oberfläche von B-Zellen. Es werden fünf verschiedene Isotypen unterschieden: IgM, IgG, IgA, IgE, IgD von denen IgG vier Subklassen und IgA zwei Subklassen besitzt. Sie sind für die Antigenerkennung verantwortlich, d. h. sie erkennen und reagieren nur auf definierte Antigene. So wird die Zusammensetzung einer Antikörperantwort zum Beispiel im Rahmen einer bakteriellen Infektion häufig von IgA und IgG Antikörpern beherrscht. (51,66,107,109). Während IgG<sub>2</sub> und IgA<sub>2</sub> eher gegen Carbohydrate wie Lipopolysaccharide (LPS) der Antigene gerichtet sind, binden IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgA<sub>1</sub> eher Proteine der Antigene (51,66,107,109). Da immundominante Antigene eine Antikörperantwort einer gezielten Antikörperklasse hervorrufen, könnte diese Antikörperdistribution Anhaltspunkte zu den immundominanten Antigenen der bakteriellen Infektion geben. Zudem konnte in vorherigen Studien nachgewiesen werden, dass es sich bei den serospezifischen Determinanten von gramnegativen Bakterien vor allem um Lipopolysaccharide handelt, die einen zentralen Bestandteil der Zellmembran von gramnegativen Bakterien bilden (109).

In dieser Studie wurden Antikörperdistributionen von IgA, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub>, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> und IgG<sub>4</sub> auf die immundominanten Antigene der einzelnen Keime von *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* und *Tannerella forsythensis* untersucht. Die in der vorliegenden Arbeit erhobenen Antikörperdistributionen ergaben eine erhöhte Antikörperreaktivität von IgG (~65%), IgG<sub>2</sub> (~51%) und IgA (~37%) gegen *Prevotella intermedia*. Diese Ergebnisse stimmen mit vorherigen Studien überein, die gezeigt haben, dass Träger von *Prevotella intermedia* mit einer chronischen Parodontitis über einen signifikant erhöhten Antikörperserumtiter von IgA und IgG verfügen (51,68). Von *Prevotella nigrescens* lagen die IgG<sub>2</sub>-Antikörperreaktivitäten mit ca. 36% an zweiter Stelle

der Antikörperdistributionen. Übereinstimmend mit einer anderen Studie zeigte sich eine deutlich vermehrte Antikörperreaktivität von IgG mit ungefähr 35% gegen *Tannerella forsythensis* (38). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass vor allem Lipopolysaccharide die immundominanten Antigene der Zellmembran der untersuchten gramnegativen Bakterien bilden.

In der Literatur gibt es Hinweise darauf, dass für die Antikörperdistributionen und deren Subklassen nicht allein die bakterielle Infektion ein entscheidender Einflussfaktor ist, sondern auch die Tatsache, ob es sich um eine lokale oder systemische Antikörperproduktion handelt. Die in der Subgingivalflüssigkeit und im Speichel enthaltenen Immunglobuline gelangen zum einen über den Blutkreislauf zur parodontalen Läsion, zum anderen über das lokale Gewebe, wenn sie von den ortsständigen Plasmazellen produziert werden. Die systemische Immunabwehr ist eher durch IgG-Antikörper gekennzeichnet, und findet im tieferen Granulationsgewebe statt, wohingegen die lokale Immunabwehr durch IgA-Antikörperproduzierenden Plasmazellen eine größere Rolle im oberflächlich gelegenen Mukosagewebe spielt (33,51). Aufgrund der Tatsache, dass die Serumantikörpertiter von IgA nicht die Antikörperreaktivitäten der Gingivalflüssigkeiten widerspiegeln (52,53), könnte dies ein Grund für die selten bis gar nicht detektierten Antikörperreaktivitäten gegen IgA<sub>1</sub> und IgA<sub>2</sub> in der vorliegenden Studie sein. Einen zweiten Grund für die geringe IgA<sub>1</sub> und IgA<sub>2</sub>-Antikörperreaktivität könnte die Lokalisation der parodontalen Läsion darstellen. Im Granulationsgewebe war ein geringerer Anteil an IgA mRNA sezernierenden Plasmazellen nachzuweisen als im gingivalen Gewebe (51). Das heißt, in der Gingiva wird eher eine lokale Immunantwort nach einer bakteriellen Infektion ausgelöst, wohingegen im Granulationsgewebe eher eine systemische Immunabwehr stattfindet. Da alle drei hier untersuchten Keime sich vermehrt in tiefer gelegenen Gewebsabschnitten wie dem Granulationsgewebe konzentrieren, und weniger in der supragingivalen Plaque oder auf der Gingiva (65,102), könnte die systemische Immunabwehr eine größere Bedeutung besitzen als die lokale Immunabwehr (50, 51,52).

Das gingivale Gewebe ist den Virulenzfaktoren der putativ parodontopathogenen Keime besonders stark ausgesetzt. Somit sollten sich die

sich hier befindlichen Immunglobuline resistent gegenüber den verschiedenen bakteriellen Proteasen verhalten. IgA<sub>2</sub>-Immunglobuline zeichneten sich durch eine besondere Widerstandsfähigkeit gegenüber bakteriellen Proteasen aus (51,53). Eine erhöhte IgA<sub>2</sub>-Antikörperproduktion könnte sich eventuell protektiv auf eine bakterielle Infektionsabwehr auswirken. Aufgrund der Annahme, dass IgA<sub>2</sub> eventuell einen protektiven Effekt besitzt, wäre es interessant, die Antikörperreaktivität von IgA<sub>2</sub> in der Gingivalflüssigkeit der Probanden zu ermitteln, um eine eventuelle Veränderung der lokalen Immunabwehr nach Parodontitistherapie zu erfassen. Ein weiteres Problem, einen Schutz vor einer Initiation der Parodontitis aufzubauen, ist die Vielfältigkeit der Virulenzfaktoren der putativ parodontopathogenen Keime.

Zu den wichtigsten Virulenzfaktoren von *Prevotella nigrescens*, *Prevotella intermedia* und *Tannerella forsythensis* zählen die Inaktivierung und der Abbau von Immunglobulinen (46,47). *Prevotella intermedia* und *Prevotella nigrescens* besitzen Zysteinproteasen mit einem Molekulargewicht von 40-kDa in ihrer Zelloberflächenmembran (46,47). Durch ihre proteolytische Aktivität sind sie in der Lage verschiedene Gewebearten (92) und Serumproteine wie Immunglobuline, eisenbindende Proteine (47) abzubauen. Die Spaltung der Proteine zu Peptiden und Aminosäuren dient der Energiezufuhr, der Förderung des bakteriellen Wachstums, der weiteren Stimulation des Gewebeabbaus sowie der Schwächung der Immunabwehr (46,47). Dies könnte einer der Gründe für die nur schwach ausgeprägten Antikörperreaktivitäten im Bereich von 40-kDa von *Prevotella intermedia* ATCC 25611 und *Prevotella nigrescens* ATCC 3356 sein. Darüber hinaus wurde auch bei *Tannerella forsythensis* ATCC 43073 auf dem *prhH*-Gen eine 48-kDa schwere Zysteinprotease mit proteolytischer Aktivität identifiziert (99). Mit dieser Zysteinprotease verschafft sich *Tannerella forsythensis* unter anderem die Möglichkeit, Immunglobuline abzubauen, um sich so der humoralen Immunabwehr zu entziehen. Letztendlich wird in der Studie aber nicht beschrieben, ob diese Zysteinproteasen in der Zelloberflächenmembran von *T. f.* befestigt sind, doch ist interessanterweise auch bei ca. 48-kDa in der vorliegenden Arbeit eine niedrige Antikörperreaktivität zu verzeichnen. Hieraus könnte man schließen,

dass kein oder nur wenige Antikörperreaktivitäten in den Molekularbereichen der Keime nachzuweisen sind, in denen proteolytische Enzyme wie Zysteinproteasen sequenziert werden konnten, da diese in der Lage sind Immunglobuline in Fragmente zu spalten und zu Peptiden und Aminosäuren abzubauen..

Anders als mit den proteolytischen Enzymen scheint es sich mit hydrolytischen Enzymen zu verhalten: Eine ca. 74-kDa schwere Elastase, welche für die Gewebszerstörung verantwortlich ist, konnte als Serinenzym aus der Zelle von *Prevotella intermedia* ATCC 25611 extrahiert werden (88). Bei einem ca. 79-kDa schweren Membranprotein von *Prevotella intermedia* ATCC 25611 lag in der vorliegenden Studie ein Hauptantigen vor. Angenommen, es würde sich bei diesem Hauptantigen um ein hydrolytisches Enzym handeln, könnte das bedeuten, dass Antikörper Verbindungen zu hydrolytischen, nicht aber zu proteolytischen Enzymen eingehen könnten. Hierzu wären weitere Untersuchungen notwendig.

Eine weitere Möglichkeit der selten detektierten Antigen-Antikörperbindung im Bereich von 40-kDa von *Prevotella intermedia* und *Prevotella nigrescens* könnte, wie oben schon erwähnt, durch ihre proteolytische Zysteinprotease bedingt sein, jedoch auch durch den 37-kDa schweren Transferrinbindungsrezeptor, der auf der Zelloberfläche von *Prevotella nigrescens* und *Prevotella intermedia* identifiziert werden konnte (25). Durch die Transferrinbindung gelangen *Prevotella intermedia* und *Prevotella nigrescens* an Eisen, welches ebenfalls für ihr Wachstum in der parodontalen Tasche notwendig ist und einen wichtigen Bestandteil ihrer metabolischen Enzyme ausmacht (25,94). Es konnte in vitro gezeigt werden, dass Immunglobuline die Transferrinbindungsaktivität von *Prevotella intermedia* nicht hemmen konnten, und somit *P. intermedia* und *P. nigrescens* an dieser Stelle nicht angreifbar waren (25).

Bakterien besitzen Fimbrien auf ihrer Zelloberfläche, die die bakterielle Zelladhäsion ermöglichen (40). Antifimbrien-Antikörper konnten bereits häufig bei Patienten mit einer parodontalen Infektion nachgewiesen werden (73). Bei einem 55-kDa schweren Oberflächenantigen von *Prevotella intermedia* wurde



immunelektronenmikroskopisch beobachtet, dass zum einen Antikörper gegen dieses Oberflächenantigen gerichtet sind, und zum anderen dieses Antigen mit Zelloberflächenfimbrien der Epithelzellen sowie mit *Porphyromonas gingivalis* Coaggregationen bilden kann (68). In der vorliegenden Studie konnte ein Hauptantigen von *Prevotella intermedia* gegen ein ca. 53-kDa schweres Membranprotein ermittelt werden, was möglicherweise mit dem bereits nachgewiesenen 55-kDa schweren Oberflächenantigen von *P. i.* vergleichbar ist. Des Weiteren konnte ein ca. 57-kDa Oberflächenprotein identifiziert werden, welches ebenfalls die Funktion der Adhäsion hat und eine Verbindung mit Fibronektin eingehen kann (3). Allerdings muss es mit Lactoferrin um die Bindungsstellen konkurrieren, ein eventuell protektiver Mechanismus des Wirtes. Deshalb scheint das 57-kDa schwere Oberflächenantigen von *Prevotella intermedia* weniger virulent zu sein als das 53-kDa schwere Oberflächenantigen.

In einer anderen Studie konnte ein weiterer Mechanismus festgestellt werden, der für die schwachen Antikörperreaktivitäten von *Tannerella forsythensis* verantwortlich sein könnte. So wurde hier eine ausgeprägte genotypische Variationsfähigkeit von *Tannerella forsythensis* beschrieben (76), was auf einen evolutionären Mechanismus dieser Mikroorganismen zur Immunevasion durch Modulation der Oberflächenantigene hindeutet.

Zusammenfassend lässt sich erkennen, dass keine Korrelation zwischen den klinischen Parametern der untersuchten 35 Patienten und den positiven Antikörperklassenreaktivitäten weder vor noch nach der Therapie festzustellen war. Die klinischen Parameter der untersuchten Patienten wiesen jedoch aufgrund der durchgeführten Parodontitistherapie nach dem supra- und subgingivalen Debridement verbesserte Werte auf. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass in folgenden Studien ein protektiver Schutz durch das Immunsystem erforscht werden wird. Bei jedem Keim konnten Hauptantigene identifiziert werden. Um zu erkennen, gegen welche Hauptantigene Antikörper gebildet werden, wäre es interessant diese zu charakterisieren,.

Eine weitere interessante Beobachtung dieser Arbeit war, dass erhöhte Antikörperreaktivitäten in den kDa-Bereichen nachgewiesen werden konnten, die man häufig den hydrolytischen Enzymen zuordnet (88). In den kDa-Bereichen, in denen vermehrt proteolytische Enzyme sequenziert wurden, waren dagegen kaum Antikörperreaktivitäten nachzuweisen (46,47,99). Dies deutet auf einen Aufbau von Antikörpern hin, die gegen hydrolytische Enzyme, nicht aber gegen proteolytische gerichtet sind.

Weitere Untersuchungen sind notwendig, um zu klären, gegen welche Antigen determinanten der Keime Antikörper aufgebaut werden können, um die Funktion der Antikörper in der Pathogenese der Parodontitis weiter zu erforschen.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Albandar, J. M., Brown, L. J., L oe, H. (1997)  
Putative periodontal pathogens in subgingival plaque of young adults with and without early-onset periodontitis  
J Periodontol 68, 973-981
2. Albandar, J. M., DeNardin, A. M., Adesanya, M. R., Diehl, S. R., Winn, D. M. (2001)  
Association between serum antibody levels to periodontal pathogens and early-onset periodontitis  
J Periodontol 72, 1463-1469
3. Alugupalli, K. R., Kalfas, S., Edwardsson, S., Forsgren, A., Arnold, R. R., Naidu, A. S. (1994)  
Effect of lactoferrin on interaction of *Prevotella intermedia* with plasma and subepithelial matrix proteins  
Oral Microbiol Immunol 9, 174-179
4. Arakawa, S., Nakajima, T., Ishikura, H., Ichinose, S., Ishikawa, I., Tsuchida, N. (2000)  
Novel apoptosis- inducing activity in *Bacteroides forsythus*: a comparative study with three serotypes of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*  
Infect Immun 68, 4611-4615
5. Ashimoto, A., Chen, C., Bakker, I., Slots, J. (1996)  
Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions  
Oral Microbiol Immunol 11, 266-273

6. Baelum, V., Fejerskov, O., Manji, F. (1988)  
Periodontal diseases in adult Kenyans  
J Clin Periodontol 15, 445-452
7. Berglundh, T., Liljenberg, B., Lindhe, J. (1999)  
Some effects of periodontal therapy on local and systemic immunological parameters  
J Clin Periodontol 26, 91-98
8. Berglundh, T., Wellfelt, B., Liljenberg, B., Lindhe, J. (2001)  
Some local and systemic immunological features of prepubertal periodontitis  
J Clin Periodontol 28, 113-120
9. Brown, L. F., Beck, J. D., Rozier, R. G. (1994)  
Incidence of attachment loss in community-dwelling older adults  
J Periodontol 65, 316-323
10. Brown, L. J., Löe, H. (1993)  
Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease  
Periodontol 2000 2, 57-71
11. Brown, L. J., Oliver, R. C., Löe, H. (1990)  
Evaluating periodontal status of US employes adults  
J Am Dent Assoc 121, 226-232
12. Burt, B. A., Ismail, A. I., Morrison, E. C., Beltran, E. D. (1990)  
Risk factors for tooth loss over a 28-year period  
J Dent Res 69, 1126-1130
13. Califano, J. V., Gunsolley, J. C., Schenkein, H. A., Tew, J. G. (1997)  
A Comparison of IgG antibody reactive with *Bacteroides forsythus* and *Porphyromonas gingivalis* in adult and early-onset periodontitis  
J Periodontol 68, 734-738

14. Califano, J. V., Pace, B. E., Gunsolley, J. C., Schenkein, H. A., Lally, E. T., Tew, J. G. (1997)  
Antibody reactive with *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin in early-onset periodontitis patients  
Oral Microbiol Immunol 12, 20-26
15. Celenligil-Nazliel, H., Kansu, E., Ebersole, J. L. (1999)  
Periodontal findings and systematic antibody responses to oral microorganisms in Behcet's disease  
J Periodontol 70, 1449-1456
16. Consensus report (1996)  
Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors  
Ann Periodontol 1, 926-932
17. Costerton, J. W., Lowandowski, Z., DeBeer, D., Caldwell, D., Korber, D., James, D. (1994)  
Biofilms, the customized microniche  
J Bacteriol 176, 2137-2142
18. Costerton, J. W., Stewart, P. S., Greenberg, E., P. (1999)  
Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections  
Science 284, 1318-1322
19. Craig, R. G., Boylan, R., Yip, J., Mijares, D., Imam, M., Socransky, S. S., Taubman, M. A., Haffajee, A. D. (2002)  
Serum IgG antibody response to periodontal pathogens in minority populations: relationship to periodontal disease status and progression  
J Periodont Res 37, 132-146
20. Danielsen, B., Wilton, J. M. A., Baelum, V., Johnson, N. W., Fejerskov, O. (1993)  
Serum immunoglobulin G antibodies to *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* and *Streptococcus*

- sanguis* during experimental gingivitis in young adults  
Oral Microbiol Immunol 8, 154-160
21. Darveau, R. P., Tanner, A., Page, R. C. (1997)  
The microbial challenge in periodontitis  
Periodontol 2000 14, 12-32
22. Dibart, S. (1998)  
Identification of bacterial species on or in crevicular epithel cells from  
healthy and periodontally diseased patients using DNA-DNA hybridization  
Oral Microbiol Immunol 13, 30-35
23. Dorn, B. R., Leung, K. L., Progulske-Fox, A. (1998)  
Invasion of human oral epithelial cells by *Prevotella intermedia*  
Infect Immun 66, 6054-6057
24. Doungudomdacha, S., Rawlinson, A., Walsh, T. F., 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  
J Clin Periodontol 28, 437-445
25. Duchesne, P., Grenier, D., Mayrand, D. (1999)  
Binding and utilization of human transferrin by *Prevotella intermedia*  
Infect Immun 67, 576-580
26. Duncan, M. J., Nakao, S., Skobe, Z., Xie, H. (1993)  
Interactions of *Porphyromonas gingivalis* with epithelial cells  
Infect Immun 61, 2260-2265
27. Ebersole, J. L., Bauman, G. R., Cox O`Dell, S. E., Giardino, A. (1997)  
Evidence for serum immunoglobulin G (IgG) antibody responses in  
*Macaca fascicularis* identified by monoclonal antibodies to human IgG  
subclasses  
Oral Microbiol Immunol 12, 193-203

28. Ebersole, J. L., Kornman, K. S. (1991)  
Systemic antibody responses to oral microorganisms in the cynomolgus monkey: development of methodology and longitudinal responses during ligature-induced disease  
Res Immunol 142, 829-839
29. Eley, B. M., Cox, S. W. (2003)  
Proteolytic and hydrolytic enzymes from putative periodontal pathogens: characterization, molecular genetics, effects on host defenses and tissues and detection in gingival crevice fluid  
Periodontol 2000 31, 105-124
30. Gazi, M. I., Cox, S. W., Clark, D. T., Eley B. M. (1996)  
A comparison of cysteine and serine proteinases in human gingival crevicular fluid with tissue saliva and bacterial enzymes by analytical isoelectric focusing  
Archs Oral Biol 41, 343-400
31. Gazi, M. I., Cox, S. W., Clark, D. T., Eley B. M. (1997)  
Characterisation of protease activities in *Capnocytophaga* spp., *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella* spp., *Treponema denticola* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*  
Oral Microbial Immunol 12, 240-248
32. Giardino, A., Ebersole, J. L., Holt, S. C. (1996)  
Characteristics of systemic antibody responses of nonhuman primates following active immunization with *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Bacteroides fragilis*  
Oral Microbiol Immunol 11, 79-87
33. Grbic, J. T., Lamster, I. B., Fine, J. B., et al (1999)  
Changes in gingival crevicular fluid levels of immunoglobulin A following therapy: Association with attachment loss  
J Periodontol 70, 1221-1227

34. Grbic, J. T., Singer, R. E., Jans, H. H., Celenti, R. S., Lamster, I. B. (1995)  
Immunoglobulin isotypes in gingival crevicular fluid: possible protective  
role of IgA  
J Periodontol 66, 55-61
35. Grenier, D. (1995)  
Characterization of the trypsin-like activity of *Bacteroides forsythus*  
Microbiol 141, 921-926
36. Gunsolley, J. C., Burmeister, J. A., Tew, J. G., Best, A. M., Ranney, R. R.  
(1987)  
Relationship of serum antibody to attachment level patterns in young  
adults with juvenile periodontitis or generalized severe periodontitis  
J Periodontol 58, 314-320
37. Haffajee, A. D., Socransky, S. S. (1994)  
Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. In:  
Socransky, S. S., Haffajee, A. D., eds. Microbiology and Immunology of  
periodontal diseases  
Periodontol 2000 5, 78-111
38. Haffajee, A. D., Socransky, S. S., Taubman, m. A., Sioson, J., Smith, D. J.  
(1995)  
Patterns of antibody response in subjects with periodontitis  
Oral Microbiol Immunol 10, 129-137
39. Hafström, C. A., Wikström, M. B., Renvert, S. N., Dahlén, G. G. (1994)  
Effect of treatment on some periodontopathogens and their antibody levels  
in periodontal abscesses  
J Periodontol 65, 1022-1028
40. Hamada, S., Amano, A., Kimura, S., Nakagawa, I., Kawabata, S.,  
Morisaki, I. (1998)  
The importance of fimbriae in the virulence and ecology of some oral



bacteria

Oral Microbiol Immunol 13, 129-138

41. Han, Y. W., Shi, W., Huang, G. T.-J., Haake, S. K., Park, N.-H., Kuramitsu, H., Genco, R. J. (2000)  
Interactions between periodontal bacteria and human oral epithelial cells:  
*Fusobacterium nucleatum* adheres to and invades epithelial cells  
Infect Immun 68, 3140-3146
  
42. Hashimoto, M., Asai, Y., Tamai, R., Jinno, T., Umatani, K., Ogawa, T. (2003)  
Chemical structure and immunobiological activity of lipid A from *Prevotella intermedia* ATCC 25611 lipopolysaccharide  
FEBS Lett 22, 98-102
  
43. Homayounfar, A., Bergström, J., Hammarström, L. (1999)  
Activation of human B-lymphocytes by *Prevotella intermedia*  
Swed Dent 23, 11-15
  
44. Horibe, M., Watanabe, H., Ishikawa, I. (1995)  
Effect of periodontal treatments on serum IgG antibody titers against periodontopathic bacteria  
J Clin Periodontol 22, 510-515
  
45. Hosaka, Y., Saito, A., Nakagawa, T., Seida, K., Yamada, S., Okuda, K. (1994)  
Effect of initial therapy on dynamics of immunoglobulin G levels to some periodontopathogenic bacteria in serum and gingival crevicular fluid  
Bull Tokyo Dent Coll 35, 207-216
  
46. Jansen, H. J., Grenier, D., van der Hoeven, J. S. (1995)  
Characterization of immunoglobulin G-degrading proteases of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*  
Oral Microbiol Immunol 10, 138-145

47. Jansen, H. J., van der Hoeven, J. S., van den Kieboom, C. W., Goertz, J. H., Camp, P. J., Bakkeren, J. A. (1994)  
Degradation of immunoglobulin G by periodontal bacteria  
Oral Microbiol Immunol 9, 345-351
48. Jonsson, R., Pitts, A., Lue, C., Gay, S., Mestecky, J. (1991)  
Immunoglobulin isotype distribution of locally produced autoantibody to collagen type I in adult periodontitis  
J Clin Periodontol 18, 703-707
49. Kamaguchi, A., Ohyama, T., Sakai, E., Nakamura, R., Watanabe, T., Baba, H., Nakayama, K. (2003)  
Adhesins encoded by the gingipain genes of *Porphyromonas gingivalis* are responsible for co-aggregation with *Prevotella intermedia*  
Microbiol 149, 1257-1264
50. Kinane, D. F., Adonogianaki, E., Moughal, N., Winstanley, F. P., Mooney, J., Thornhill, M. (1991)  
Immunocytochemical characterization of cellular infiltrate, related endothelial changes and determination of GCF acute-phase proteins during human experimental gingivitis  
J Periodont Res 26, 286-288
51. Kinane, D. F., Lappin, D. F., Koulouri, O., Buckley, A. (1999)  
Humoral immune responses in periodontal disease may have mucosal and systemic immune features  
Clin Exp Immunol 115, 534-541
52. Kinane, D. F., Mooney, J., MacFarlane, T. W., McDonald, M. (1993)  
Local and systemic antibody response to putative periodontopathogens in patients with chronic periodontitis: correlation with clinical indices  
Oral Microbiol Immunol 8, 65-68
53. Kinane, D. F., Takahashi, K., Mooney, J. (1997)  
Crevicular fluid and serum IgG subclasses and corresponding mRNA

- expressing plasma cells in periodontitis lesions  
J Periodont Res 32, 176-178
54. Klock, K. S., Haugejorden, O. (1991)  
Primary reasons for extraction of permanent teeth in Norway: changes  
from 1968 to 1988  
Community Dent Oral Epidemiol 19, 336-341
55. Labbé, S., Grenier, D. (1995)  
Characterization of human immunoglobulin G - Fc-binding activity of  
*Prevotella intermedia*  
Infect Immun 63, 2785-2789
56. Lamont, R. J., Chan, A., Belton, C. M., Izutsu, K. T., Vasel, D., Weinberg,  
A. (1995)  
*Porphyromonas gingivalis* invasion of gingival epithelial cells  
Infect Immun 63, 3878-3885
57. Landry, R. G., (1995)  
Specific serum IgA titres as realistic indicators of treatment prognoses  
Int Dent J 45, 267-274
58. Lee, J. W., Choi, B. K., Yoo, Y. J., Choi, S. H., Cho, K. S., Chai, J. K., Kim,  
C. K. (2003)  
Distribution of periodontal pathogens in Korean aggressive periodontitis  
J Periodontol 74, 1329-1335
59. Levesque, C., Lamothe, J., Frenette, M. (2003)  
Coaggregation of *Streptococcus salivarius* with periodontopathogens:  
evidence for involvement of fimbriae in the interaction with *Prevotella*  
*intermedia*  
Oral Microbiol Immunol 18, 333-337
60. Lie, M. A., van der Weijden, G. A., Timmerman, M. F., Loos, B. G., van  
Steenbergen, T. J. M. (2001)

- Occurrence of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* in relation to gingivitis and gingival health  
J Clin Periodontol 28, 189-193
61. Liljenberg, B., Lindhe, J., Berglundh, T., Dahlen, G., Jonsson, R. (1994)  
Some microbiological, histopathological and immunohistochemical characteristics of progressive periodontal disease  
J Clin Periodontol 21, 720-727
62. Listgarten, M. A. (1994)  
The structure of dental plaque  
Periodontol 2000 5, 52-65
63. Locker, D., Leake, J. L. (1993)  
Periodontal attachment loss in independently living older adults in Ontario, Canada  
J Public Health Dent 53, 6-11
64. Loesche, W. J., Syed, S. A., Laughon, B. E., Stoll, J. (1982)  
The bacteriology of acute necrotizing ulcerative gingivitis  
J Periodontol 53, 223-230
65. Lopez, N. J. (2000)  
Occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* and in progressing adult periodontitis  
J Periodontol 71, 948-954
66. Lu, H., Califano, J. V., Schenkein, H. A., Tew, J. G. (1993)  
Immunoglobulin class and subclass distribution of antibodies reactive with the immunodominant antigen of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype b  
Infect Immun 61, 2400-2407

67. Marshall-Day, C. D., Stephens, R. G., Quigley Jr., L. F. (1955)  
Periodontal disease: prevalence and incidence  
J Periodontol 26, 185-203
68. Matsushita, K., Nagaoka, S., Arakaki, R. et. al. (1994)  
Immunobiological activities of a 55-kilodalton cell surface protein of  
*Prevotella intermedia* ATCC 25611  
Infect Immun 62, 2459-2469
69. McArthur, W. P., Bloom, C., Taylor, M., Smith, J., Wheeler, T.,  
Magnusson, N. I. (1995)  
Antibody responses to suspected periodontal pathogens in elderly  
subjects with periodontal disease  
J Clin Periodontol 22, 842-849
70. McCaul, L. K., Jenkins, W. M., Kay, E. J. (2001)  
The reasons for the extractions of various tooth types in Scotland: a 15-  
year follow-up  
J Dent 29, 401-407
71. Mombelli, A., Casagni, F., Madianos, P. N. (2002)  
Can presence or absence of periodontal pathogens distinguish between  
subjects with chronic and aggressive periodontitis? A systematic review  
J Clin Periodontol 29, 10-21
72. Mombelli, A., Schmid, B., Rutar, A., Lang, N. P. (2000)  
Persistence patterns of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* /  
*nigrescens* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* after mechanical  
therapy of periodontal disease  
J Periodontol 71, 14-21
73. Ofek, I., Doyle, R.J. (1994)  
Relationship between bacterial cell surfaces and adhesins. In Bacterial  
adhesion to cells and tissues.  
New York: Chapman & Hall 54-93

74. Okamoto, H, Yoneyama, T., Lindhe, J., Haffajee, A. D., Socransky, S. S. (1988)  
Methods of evaluating periodontal disease data in epidemiological research  
J Clin Periodontol 15, 430-439
75. Ong, G. (1996)  
Periodontal reasons for tooth loss in an Asian population  
J Clin Periodontol 23, 307-309
76. Persson, G. R., Schlegel-Bregenzler, B., Chung, W. O., Houston, L., Oswald, T., Roberts, M. C. (2000)  
Serum antibody titers to *Bacteroides forsythus* in elderly subjects with gingivitis or periodontitis  
J Clin Periodontol 27, 839-845
77. Plombas, M., Gobert, B., Kennel de March, A., Kolopp Sarda, M. N., Sixou, M., Béné, M. C., Miller, N., Faure, G. C. (2002)  
Isotypic antibody responses to plaque anaerobes in periodontal disease  
J Periodontol 73, 1505-1511
78. Potera, C. (1999)  
Forging a link between biofilms and disease  
Science 283, 1837-1839
79. Renvert, S., Dahlen, G., Wikstrom, M. (1996)  
Treatment of periodontal disease based on microbiological diagnosis.  
Relation between microbiological and clinical parameters during 5 years  
J Periodontol 67, 562-571
80. Robertson, P., Lantz, M., Marucha, P. T., Kornman, K. S., Trummel, C. L., Holt, S. C. (1982)  
Collagenolytic activity associated with *Bacteroides* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*  
J Periodont Res 17, 275-283

81. Sakamoto, M., Suzuki, M., Umeda, M., Ishikawa, I., Benno, Y. (2002)  
Reclassification of *Bacteroides forsythus* (Tanner et. al. 1986) as  
*Tannerella forsythensis* corrig., gen. nov., comb. nov.  
Int J Syst Evol Microbiol 52, 841-849
82. Sandros, J., Papapanou, P. N., Nannmark, U., Dahlén, G. (1994)  
*Porphyromonas gingivalis* invades human pocket epithelium in vitro  
J Periodont Res 29, 62-69
83. Schenck, K., Poppelsdorf, D., Denis, C., Tollefsen, T. (1993)  
Levels of salivary IgA antibodies reactive with bacteria from dental plaque  
are associated with susceptibility to experimental gingivitis  
J Clin Periodontol 20, 411-417
84. Schlegel-Bregenzer, B., Persson, R. E., Lukehart, S. Braham, P., Oswald,  
T., Persson, G. R. (1998)  
Clinical and microbiological findings in elderly subjects with gingivitis or  
periodontitis  
J Clin Periodontol 25, 897-907
85. Shah, H. N., Collins, M. D., (1988)  
Proposal for reclassification of *Bacteroides asacchalyticus*, *Bacteroides  
gingivalis* and *Bacteroides endodontalis* in a new genus *Porphyromonas*  
Int J Syst Bacteriol 38, 128- 131
86. Shah, H. N., Collins, M. D., (1990)  
*Prevotella*, a new genus to include *Bacterioides melaninogenicus* and  
related species formly classified in the genus *Bacterioides*  
Int J Syst Bacteriol 40, 205-208
87. Shah, H. N., Gharbia, S. E. (1992)  
Biochemical and chemical studies on strains designated *Prevotella  
intermedia* and proposal of a new pigmented species, *Prevotella  
nigrescens* sp. nov.  
Int J Syst Bacteriol 42, 542-546

88. Shibata, Y., Miwa, Y., Hirai, K., Fujimura, S. (2003)  
Purification and partial characterization of a dipeptidyl peptidase from  
*Prevotella intermedia*  
Oral Microbial Immunol 18, 196-198
89. Sims, T. J., Mancl, L. A., Braham, P. H., Page, R. C. (1998)  
Antigenic variation in *Bacteroides forsythus* detected by a checkerboards  
enzyme-linked immunosorbent assay  
Clin Diagn Lab Immunol 5, 725-731
90. Slots J. (1981)  
Enzymatic characterization of some oral and nonoral gram-negative  
bacteria with the API ZYM system  
Clin Microbiol 14, 288-294
91. Slots, J., Ashimoto, A., Flynn, M., J., Li, G., Chen, C. (1995)  
Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens by  
16S ribosomal DNA amplification with the polymerase chain reaction  
Clin Infect Diseases 20, 304-307
92. Slots, J., Genco, R. J. (1984)  
Microbial pathogenicity. Black pigmented *Bacteroides* species,  
*Capnocytophaga* species, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in  
human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival and  
tissue destruction  
J Dent Res 63, 412-421
93. Slots, J., Listgarten M. A. (1988)  
*Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus*  
*actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases  
J Clin Periodontol 15, 85-93
94. Smalley, J. W., Silver, J., Birss, A. J., Withnall, R., Titler, P. J. (2003)  
The haem pigment of the oral anaerobes *Prevotella nigrescens* and  
*Prevotella intermedia* is composed of iron (III) protoporphyrin IX in the



- monomeric form  
Microbiol 149, 1711-1718
95. Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C., Kent, R. L. Jr (1998)  
Microbial complexes in subgingival plaque  
J Clin Periodontol 25, 134-144
96. Stubbs, S., Lewis, M. A., Waddington, R. J., Embery, G. (1996)  
Hydrolytic and depolymerising enzyme activity of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*  
Oral Dis 2, 272-278
97. Suido, H., Eguchi, T., Tanaka, T., Nakamura, M. (1988)  
Identification of periodontopathic bacteria based upon their peptidase activities  
Adv Dent Res 2, 304-309
98. Takada, K., Fukatsu, A., Otake, S., Hirasawa, M. (2003)  
Isolation and characterization of hemolysin activated by reductant from *Prevotella intermedia*  
FEMS Immunol Med Microbiol 21, 43-47
99. Tan, K. S., Song, K.-P., Ong, G. (2001)  
*Bacteroides forsythus prfH* genotype in periodontitis patients: occurrence and association with periodontal disease  
J Periodont Res 36, 398-403
100. Tanaka, S., Murakami, Y., Ogiwara, T., Shoji, M., Seto, K., Nagasaki, M., Fujisawa, S. (2002)  
Frequency of reactivity for *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella* spp. in supra- and subgingival plaques, and periodontal clinical parameters according to subject age  
J Periodontol 73, 877-885

101. Tanner, A. C. R., Haffer, C., Bratthall, G. T., Visconti, R. A., Socransky, S. S. (1979)  
A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man  
J Clin Periodontol 6, 278-307
102. Tanner, A. C. R., Listgarten, M. A., Ebersole, J. L., Strzempko, M. N. (1986)  
*Bacteroides forsythus* sp. nov., a slow-growing fusiform *Bacteroides* sp. from the human oral cavity  
Int J Syst Bacteriol 36, 213-221
103. Tanner, A., Maiden, M. F. J., Macuch, P. J., Murray, L. L., Kent Jr, R. L. (1998)  
Microbiota of health, gingivitis and initial periodontitis  
J Clin Periodontol 25, 85-98
104. Timmerman, M. F., van der Weijden, G. A., Armand, S., Abbas, F., Winkel, E. G., van Winkelhoff, A. J., van der Velden, U. (1998)  
Untreated periodontal disease in Indonesian adolescents  
J Clin Periodontol 25, 215-224
105. van Winkelhoff, A. J., van Steenberghe, T. J. M., de Graaff, J. (1988)  
The role of black-pigmented *Bacteroides* in human oral infections  
J Clin Periodontol 15, 145-155
106. Wassenaar, A., Reinhardus, C., Abraham-Inpijn, L., Snijders, A., Kievits, F. (1998)  
Characterization of *Prevotella intermedia*-specific CD4<sup>+</sup> T cell clones from peripheral blood of a chronic adult periodontitis patient  
Clin Exp Immunol 113, 105-110
107. Whitney, C., Ant, J., Moncla, B., Johnson, B., Page, R. C., Engel, D. (1992)  
Serum immunoglobulin G antibody to *Porphyromonas gingivalis* in rapidly

progressive periodontitis: titer, avidity and subclass distribution  
Infect Immun 60, 2194-2200

108. William, R., McArthur, W. P., Clark, W. B. (1993)  
Specific antibodies and periodontal role in periodontal diseases  
J Periodontol 64, 807-818
109. Wilson, M. H., Hamilton, R. G. (1995)  
Immunoglobulin G subclass response of juvenile periodontitis subjects to  
principal outer membrane proteins of *Actinobacillus*  
*actinomycetemcomitans*  
Infect Immun 63, 1162-1169
110. Ximenez-Fyvie, L. A., Haffajee, A. D., Socransky, S. S. (2000)  
Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with  
adult periodontitis  
J Clin Periodontol 27, 722-732
111. Yoneyama, T., Okamoto, H., Lindhe, J., Socransky, S. S., Haffajee, A. D.  
(1988)  
Probing depth, attachment loss and gingival recession. Findings from a  
clinical examination in Ushiku, Japan  
J Clin Periodontol 15, 581-591

## 7 Anhang

### 7.1 Lebenslauf

#### **Persönliche Daten:**

Name: Alexandra Ordelheide, geb. Bonse  
geboren: 23. Mai 1978 in Münster  
Wohnort: Mühlenstr. 1, 48143 Münster  
Eltern: Rudolf Bonse, Steuerberater  
Beate Bonse, geb. vom Hove, Oberstudienrätin  
Geschwister: Ein älterer Bruder und eine jüngere Schwester  
Familienstand: verheiratet

#### **Schulbildung:**

1984-1988: Mauritzgrundschule, Münster  
1988-1994: Pascalgymnasium, Münster  
1994-1995: Lycée Carnot, Paris  
1995-1997: Annette-von-Droste-Hülshoff-Gymnasium, Münster

#### **Studium:**

Okt. 1997: Beginn des Studiums der Zahnmedizin an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster  
18.03.1999: Naturwissenschaftliche Vorprüfung  
28.03.2000: Zahnärztliche Vorprüfung  
Sept. 2002: Famulaturaufenthalt bei Prof. Dr. E. Puricelli, Mund- und Kiefer-Gesichtschirurgie, Porto Alegre, Brasilien  
24.07.2003: Staatsexamen Zahnmedizin  
30.07.2003: Approbation als Zahnärztin

#### **Berufstätigkeit:**

seit 01.01.2004: Praxis Dr. W. Janzen, Versmold  
Interessensgebiete: Parodontologie, Funktionsdiagnostik

## 7.2 Danksagung

Mein besonderer Dank gebührt Herrn Priv.-Doz. Dr. Dr. Thomas Beikler für die Überlassung des Themas und die gute Betreuung und Hilfe bei der Erstellung der Arbeit.

Ich möchte außerdem dem Team des mikrobiologischen Labors der Abteilung für Parodontologie besonders danken für die Einarbeitung in die Methodik des Western Blot Verfahrens und die intensive Betreuung bei der Durchführung der Versuche.

Weiterhin möchte ich meinem Kollegen Ghiath Abdeen für die Durchführung der zahlreichen Voruntersuchungen danken.

Schließlich danke ich meinem Mann, meinen Eltern und meiner Freundin Alena sehr für die seelische, moralische und computertechnische Unterstützung während der letzten vier Jahre.