

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Anatomie
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Reinhard Hildebrand -

**Kommerzielle Tests zur Bestimmung
des Karies- und Parodontitisrisikos**

INAUGURAL-DISSERTATION

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

vorgelegt von:
Heckl, Otto
aus Neuburg a. d. Donau

2007

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Volker Arolt

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. dent. Udo Stratmann

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Johannes Kleinheinz

Tag der mündlichen Prüfung: 14.11.2007

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Institut für Anatomie

- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Reinhard Hildebrand -

Referent: Prof. Dr. med. dent. Udo Stratmann

Koreferent: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Johannes Kleinheinz

Zusammenfassung

Kommerzielle Tests zur Bestimmung des Karies- und Parodontitisrisikos

Heckl, Otto

Von den Kariesrisikotests zum Nachweis von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen sowie zur Ermittlung der Pufferkapazität des Speichels und der Milchsäureaktivität von Bakterien erfüllt keiner - weder allein noch in Kombination - das Kriterium einer 80%igen Genauigkeit. Besonders die Erkennung eines geringen Kariesrisikos ist problematisch. Jedoch können die Tests dem Patienten die aktuelle Kariesgefährdung und die positiven Auswirkungen einer Risikominimierung verdeutlichen. Empfohlen werden kann auch ein moderner Gensondentest zum Nachweis von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen, dem sich bei negativem Ergebnis zur Diagnosesicherung eine PCR-(Polymerase-Kettenreaktion)-Auswertung anschließt.

Der Nachweis von Parodontitiserregern ist mit hoher Genauigkeit mittels Gensonden oder PCR möglich. Da die Parodontitis-Leitkeime Bestandteile der physiologischen Mundflora sind, ist ein quantitativer Nachweis durch die Realtime-PCR sinnvoll. Empfohlen wird der Einsatz molekularbiologischer Verfahren bei solchen Parodontitiden, bei denen eine Indikation zur systemisch- adjuvanten Antibiotikatherapie besteht.

Ein weiterer molekularbiologischer Test, der Nachweis des Interleukin-I-Gens, hat zwar keinen diagnostischen Wert, aber eine prognostische Bedeutung, da Patienten mit einem positiven Ergebnis ein deutlich höheres Risiko für das Entstehen einer Parodontitis mit Attachmentverlust aufweisen.

Tag der mündlichen Prüfung: 14.11.2007

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	Epidemiologie und Ätiologie von Karies und Parodontitis	2
1.1.1	Karies	2
1.1.2	Parodontitis	9
1.2	Nachweis spezifischer Leitkeime der Karies und Parodontitis	15
1.2.1	Mikrobiologischer Nachweis	15
1.2.2	Gentechnische Methoden	17
1.3	Labortechnische Methoden zur Risikodiagnostik	20
1.3.1	Pufferkapazität des Speichels	20
1.3.2	Speichelfließrate	21
1.3.3	Nachweis des Interleukin-1-Gens zur Prognose einer hohen Parodontitisgefährdung	21
1.3.4	Weitere Parameter	22
2	MATERIAL UND METHODIK	24
3	ERGEBNISSE	25
3.1	Probennahme	25
3.1.1	Entnahme von Speichelproben	25
3.1.1.1	Gewinnung von stimuliertem Speichel, Bestimmung der Speichelfließrate.....	25
3.1.1.2	Spatelmethode	26
3.1.2	Entnahme von Proben von der Zunge	26
3.1.3	Papierspitzenmethode.....	26
3.1.4	Wangenabrieb.....	27

3.2	Kariesrisikodiagnostik	27
3.2.1	Übersicht	27
3.2.2	Mikrobiologischer Nachweis von Mutans-Streptokokken und Laktoazillen	29
3.2.2.1	Dentocult® SM	29
3.2.2.2	Dentocult LB®	32
3.2.2.3	CarioCheck® plus SM/LB.....	34
3.2.2.4	CRT® bacteria.....	36
3.2.3	Bestimmung der Pufferkapazität des Speichels	37
3.2.3.1	CRT® buffer	37
3.2.3.2	BuffCheck®	38
3.2.4	Gentechnischer Nachweis von <i>S. mutans</i> und Laktobazillen	40
3.2.4.1	LCL®-Karies-Test.....	40
3.2.5	Nachweis der bakteriellen Stoffwechselaktivität mittels Milchsäure- Indikatoren	42
3.2.6	Ermittlung des Kariesrisikos mit Kombinationen aus kommerziellen Tests und anderen Parametern.....	44
3.2.6.1	CarioCheck® plus	44
3.2.6.2	Cariogramm.....	47
3.3	Parodontitisrisikodiagnostik	49
3.3.1	Übersicht	49
3.3.2	LCL® Parodontitis	51
3.3.3	ParoCheck®.....	52
3.3.4	Meridol® Paro Diagnostik.....	53
3.3.4.1	micro-IDent®	54
3.3.4.2	GenoType PST®.....	56
3.4	Zuverlässigkeit der Testsysteme	57
3.4.1	Mikrobiologische Kariestests.....	57
3.4.1.1	Nachweis von Mutans-Streptokokken	57
3.4.1.2	Nachweis von Laktobazillen	60
3.4.1.3	Ergebnisse von Kombinationen.....	62

3.4.1.4	Nachweis der Milchsäureproduktion.....	62
3.4.2	Gentechnische Tests.....	64
3.4.2.1	Karies	64
3.4.2.2	Parodontitis	64
4	DISKUSSION	65
4.1	Kariesrisikodiagnostik	65
4.1.1	Nachweis von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen mit selektiven Kulturmedien	66
4.1.2	Pufferkapazität des Speichels	68
4.1.3	Kombinationen verschiedener Speicheltests.....	68
4.1.4	Kombinationen von Speicheltests mit klinischen Parametern	69
4.1.5	Bestimmung der Milchsäureaktivität.....	70
4.1.6	Differenzierung von kariogenen Bakterien mittels Gensonden.....	70
4.2	Parodontitisrisikodiagnostik	71
4.2.1	Verwendung gentechnischer Verfahren	71
4.2.2	Bestimmung der Parodontitisprognose mit Hilfe der Gentechnologie	76
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	77
6	LITERATURVERZEICHNIS	79

Abkürzungen

AAP	<i>American Academy of Periodontology</i>
AP	Adulte Parodontitis
BANA	Benzoyl-DL-Arginin- β -Naphthylamid
CSI	Karies-Schweregrad-Index, <i>caries severity index</i>
DGP	Deutsche Gesellschaft für Parodontologie
DGZMK	Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
DMFS	<i>decayed, missing, filled surfaces</i> kariöse, fehlende, gefüllte Oberflächen (bleibendes Gebiss)
dmfs	<i>decayed, missing, filled surfaces</i> kariöse, fehlende, gefüllte Oberflächen (Milchgebiss)
DMFT	<i>decayed, missing, filled teeth</i> kariöse, fehlende, gefüllte Zähne (bleibendes Gebiss)
dmft	<i>decayed, missing, filled teeth</i> kariöse, fehlende, gefüllte Zähne (Milchgebiss)
EOP	<i>early-onset periodontitis</i>
GJP	generalisierte juvenile Parodontitis
IL	Interleukin
kbE	koloniebildende Einheiten
LJP	lokalisierte juvenile Parodontitis
MSB	Mitis-salivarius-Bouillon
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> , Polymerase-Kettenreaktion
PFRI	<i>plaque formation rate index</i> , Plaquebildungsindex
PP	präpubertäre Parodontitis
RPP	rasch progrediente Parodontitis
WHO	<i>World Health Organization</i> , Weltgesundheitsorganisation

1 Einleitung

In der zahnärztlichen Praxis stand jahrzehntelang die Therapie von Karieserkrankungen und Parodontitiden im Vordergrund. Derzeit findet ein Paradigmenwechsel von der Reparatur bereits entstandener Schäden zur Vorbeugung des Entstehens von Läsionen statt. Bezüglich der Kariesprophylaxe stellten die amerikanischen „National Institutes of Health“ im Jahr 2001 fest:

„...die fortschreitende Entwicklung sensitiverer Diagnostika zur Erkennung der Karieserkrankung in ihrer frühesten Phase wird den Weg ebnen für den Einsatz nichtinvasiver Behandlungsmöglichkeiten, die den Kariesprozess aufhalten oder umkehren“ (NIH, 2001).

Es besteht eine große Nachfrage nach geeigneten Tests, um einen Handlungsbedarf für präventive Maßnahmen rechtzeitig erkennen und die erforderlichen Behandlungen zeitlich planen zu können. Die Eignung der Tests umfasst zahlreiche Parameter wie

- Reproduzierbarkeit oder Reliabilität, d.h. bei Mehrfachmessungen sollten die Ergebnisse möglichst übereinstimmen,
- Validität, d. h. den Grad der Testgenauigkeit gemessen durch Bestimmung von Sensitivität, Spezifität oder Vorhersagegenauigkeit.
- Aus praktischen Erwägungen sollten die Tests auch das Kriterium der Praktikabilität erfüllen, d. h. einfach durchführbar, leicht anzuwenden und kostengünstig sein sowie schnelle Resultate liefern.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es daher, mit Hilfe der internationalen Fachliteratur zu überprüfen, welche kommerziell vertriebenen Tests sich derzeit als geeignet erwiesen haben. Hieraus sollten Empfehlungen für die zahnärztliche Praxis bezüglich einer Abschätzung des Erkrankungsrisikos beziehungsweise des zu erwartenden Krankheitsverlaufes möglich sein.

1.1 Epidemiologie und Ätiologie von Karies und Parodontitis

1.1.1 Karies

In Industrieländern wie Deutschland hat heute nahezu jeder Erwachsene zumindest einen kariösen Zahn, so dass die Zahl von Karies betroffener Patienten aus epidemiologischer Sicht nicht aussagekräftig ist. Daher hat sich die Bestimmung der Zahl kariöser Zähne/Individuum als Maßzahl eingebürgert: Der DMF-Index beschreibt die Anzahl kariöser, fehlender und/oder gefüllter Zähne (DMFT¹) beziehungsweise Zahnoberflächen (DMFS²) im Wechselgebiss. Die Angaben „dmft“ oder „dmfs“ beziehen sich auf das Milchgebiss.

Bezüglich der Epidemiologie der Karies ist heute davon auszugehen, dass in der Bundesrepublik Deutschland und auch anderen industrialisierten Ländern mit vergleichbaren Ernährungsgewohnheiten praktisch jeder Erwachsene und die meisten Kinder zumindest einen kariösen Zahn in ihrem Gebiss haben. Die Kariesprävalenz unterscheidet sich zwischen verschiedenen Ländern nicht unerheblich; relativ günstige Zahlen (bei trotzdem noch hohen DMF-Indizes) ergeben sich dabei für Japan, die Schweiz, die ehemalige DDR, die Bundesrepublik Deutschland und die USA, ungünstige für Polen, Großbritannien und Australien. Nach den Deutschen Mundgesundheitsstudien (DMS I-III) konnte der mittlere DMFT-Index bei 12jährigen zwischen 1973 und 1997 in den alten Bundesländern von 7,2 auf 1,4 reduziert werden (HEINRICH et al., 1999). Im Rahmen der DMS IV wurde für ganz Deutschland ein weiterer Rückgang von 1,7 (1997) auf 0,7 (2005) festgestellt. Erstmals wurde in der DMS IV auch ein Rückgang der Kariesprävalenz und der Zahl verlorener Zähne bei Erwachsenen und Senioren verzeichnet (MICHEELIS und SCHIFFNER, 2006).

¹ DMFT = *decayed, missing, filled teeth*

² DMFS = *decayed, missing, filled surfaces*

In zahlreichen Ländern ist in den letzten 20 Jahren ein deutlicher Kariesrückgang zu verzeichnen. Hierfür werden – ohne bewertende Gewichtung – folgende Faktoren verantwortlich gemacht: ein gestiegenes Bewusstsein der Bevölkerung für ihre orale Gesundheit, Verbesserungen der Mundhygiene, Einschränkungen des Zuckerkonsums beziehungsweise verändertes Aufnahmeverhalten, häufigere zahnärztliche Kontrollen, Erweiterung des zahnärztlichen Leistungsangebotes durch Präventivmaßnahmen, systemische oder lokale Fluorideinwirkung (KALSBECK und VERRIPS, 1990; BRATTHALL et al., 1996; MARTHALER, 2004). Daher ist es zu einer schiefen Verteilung der Karieshäufigkeit gekommen: In Deutschland weisen etwa 30% der Kinder und Jugendlichen insgesamt ca. 75% aller Karieserkrankungen auf (MICHEELIS und REICH, 1999).

Laut Definition der *World Health Organization* (WHO) handelt es sich bei Karies um einen multikausalen irreversiblen pathologischen Vorgang exogenen Ursprungs, der posteruptiv mit Erweichung der Zahnhartgewebe und einer nachfolgenden Kavitätenbildung einhergeht (CLEATON-JONES et al., 1989).

Als Voraussetzung für das Entstehen kariöser Läsionen werden vier Faktoren genannt (KÖNIG, 1971):

- Wirtsorganismus mit Zähnen
- Mikroorganismen
- Substrat für Mikroorganismen
- Zeit der Einwirkung der Noxen.

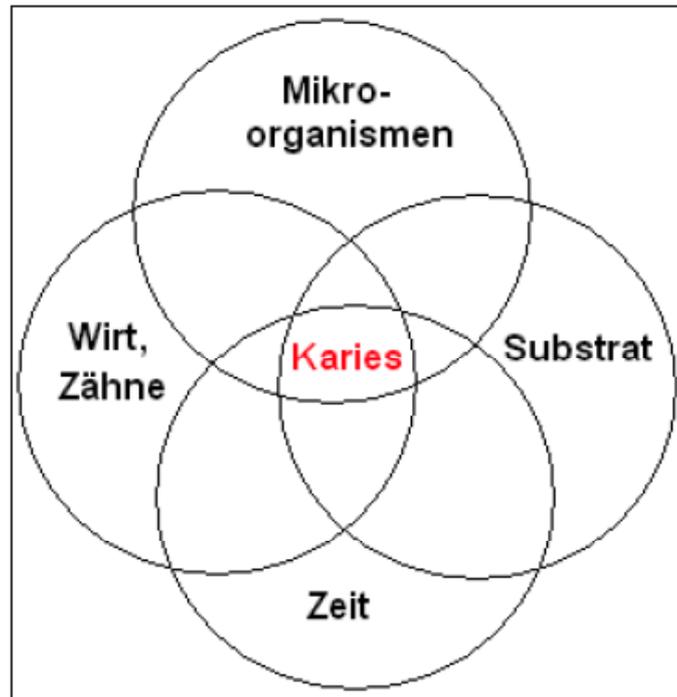


Abbildung 1: Kariesentstehung nach KÖNIG (1971)

Am infektiösen Geschehen sind überwiegend die sogenannten Mutans-Streptokokken und Laktoazillen beteiligt (PIENIHAKKINEN, 1987; DEMERS et al., 1990; BECK et al., 1992; DRAKE et al., 1994). Der Begriff Mutans-Streptokokken hat einen historischen Ursprung. *S. mutans* war die erste Streptokokkenspezies, die als Erreger der dentalen Karies identifiziert wurde (CLARKE, 1924). Erst später erkannte man, dass es sich bei als „*S. mutans*“ nachgewiesenen Mikroorganismen um sieben verschiedene Spezies handelt: *S. mutans* und *S. sobrinus* als häufigste Arten und *S. rattus*, *S. cricetus*, *S. ferus*, *S.s macacae* und *S. downei* (LINDQUIST und EMILSON, 1991). Zusammenfassend verwendet man noch heute für alle diese Erreger den Begriff Mutans-Streptokokken.

Das Spektrum aller an der Kariesentstehung beteiligten Spezies unterscheidet sich nach Kariesform und Topographie der Läsionen (ZIMMER, 2000, Tabelle 1).

Tabelle 1: Mit verschiedenen Kariesformen beziehungsweise –lokalisationen assoziierte Mikroorganismen (ZIMMER, 2000)

Kariesform	Mikroorganismen	Kariesätiologische Bedeutung
Fissuren- und Grübchenkaries	Streptococcus mutans Streptococcus sanguis Streptococcus mitis Lactobacillus sp. Actinomyces sp.	hoch gering keine hoch möglich
Glattflächenkaries	Streptococcus mutans Streptococcus salivarius	hoch niedrig
Dentinkaries	Lactobacillus sp. Actinomyces viscosus Actinomyces naeslundii Streptococcus mutans Stäbchenbakterien	hoch bedeutend hoch möglich bedeutend
Wurzelkaries	Actinomyces viscosus Actinomyces naeslundii Streptococcus mutans Streptococcus sanguis Streptococcus salivarius Stäbchenbakterien	hoch hoch gewisse unklar unklar hoch

Es wird angenommen, dass es sich bei Karies um eine opportunistische Infektion handelt, so dass einer Erkrankung durch Vermeidung der Übertragung von Mutans-Streptokokken vorgebeugt werden kann. Als Quelle der Keimübertragung von Kindern wird überwiegend die Mutter angesehen. Es wurde gezeigt, dass die kindliche Mundhöhle vor dem Durchbruch der Milchzähne frei von Mutans-Streptokokken ist, und dass in einem Lebensalter von 31 Monaten bereits 50% aller Säuglinge infiziert waren (CAUFIELD et al., 1993). In diesem Zusammenhang spricht man von einem „window of infectivity“ und meint damit den Zeitraum zwischen 19. und 31. Monat, in dem eine Übertragung von

Mutans-Streptokokken am wahrscheinlichsten ist (CAUFIELD et al., 1993). In der Hoffnung, dass bei einer Vermeidung der Übertragung dieser Keime der Lebensraum der Karieserreger durch andere Mikroorganismen besiedelt und damit quasi „besetzt“ wird, zielen prophylaktische Maßnahmen darauf ab, eine Mutter-Kind-Übertragung zu verhindern.

Ein bei Müttern durchgeführtes Prophylaxeprogramm kann zahlreiche Maßnahmen umfassen, wie Ernährungsberatung, professionelle Zahnreinigung, Mundhygieneinstruktionen, Fluorid-Behandlung und Zahnsanierung. Eine weitergehende Aufklärung beinhaltet beispielsweise das Unterlassen vom Vorkosten von Nahrung und Getränken aus dem Gefäß oder mit dem Löffel des Kindes oder auch das Ablecken eines heruntergefallenen Schnullers (KÖHLER et al., 1984; ALALUUSUA, 1991; KÖHLER und ANDRÉEN, 1994; LI und CAUFIELD, 1995). Es wurde nachgewiesen, dass solche Vorsichtsmaßnahmen sogar noch vier Jahre nach deren Beendigung geringere Kariesraten und reduzierte Keimzahlen bei Kindern bewirkten (KÖHLER et al., 1984).

Jedoch zeigte sich in neueren Untersuchungen, dass das angenommene Zeitfenster für die Übertragung von Mutans-Streptokokken nicht so streng definiert werden kann, wie von CAUFIELD und Mitarbeitern postuliert (CAUFIELD et al., 1993). Denn es wurden auch Infektionen bereits ab einem Alter von neun Monaten festgestellt (MOHAN et al., 1998) sowie Neuinfektionen bei älteren Kindern, die bis zu ihrem fünften Lebensjahr noch frei von einer Mutans-Streptokokken-Infektion waren (STRAETEMANS et al., 1998).

Als patientenbezogene Faktoren, die die Kariesentstehung beeinflussen, werden außer dem Lebensalter (ABERNATHY et al., 1987; BECK et al., 1988; BECK et al., 1992; LOCKER, 1996) auch der soziale Status und Ausbildungsstand (ABERNATHY et al., 1987; BECK et al., 1988; VERRIPS et al., 1993; DRAKE et al., 1994; LAWRENCE et al., 1995; EINWAG, 1997) angesehen.

Von Bedeutung ist auch der anamnestische Kariesbefall. Ein bereits bestehende Karieserkrankung impliziert allerdings nicht zwangsläufig ein unabänderli-

ches Risiko des weiteren Fortschreitens, da sich der Verlauf durch präventive Maßnahmen wie beispielsweise eine Änderung der Mundhygiene- und Ernährungsgewohnheit positiv beeinflussen lässt (ABERNATHY et al., 1987; PIENIHAKKINEN, 1987; DEMERS et al., 1990; HELFENSTEIN et al., 1991; BECK et al., 1992; JOSHI et al., 1993; DRAKE et al., 1994)

Zucker stellt ein Substrat für das Überleben und die Vermehrung kariogener Bakterien dar. Durch den Abbau von Monosacchariden wie Glukose oder Fruktose unter Säurebildung entfalten die Mikroorganismen ihre kariogene Wirkung. Bereits 1944 erkannte STEPHAN den generellen pH-Abfall in der Plaque nach Zuckerkonsum und die nachfolgende Neutralisation der entstandenen Säuren (STEPHAN, 1944).

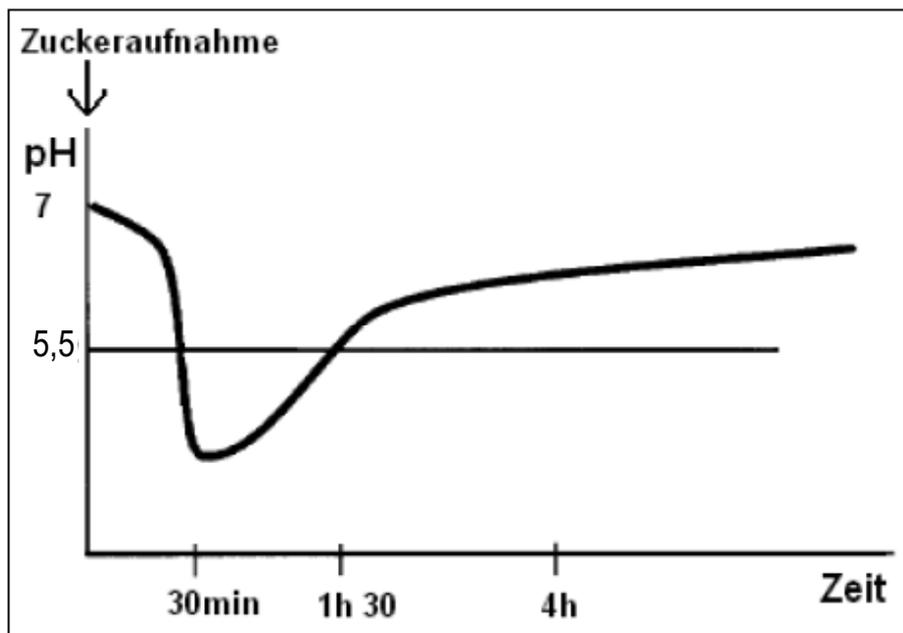


Abbildung 2: Absinken des pH-Wertes nach Zuckeraufnahme und anschließende Neutralisation – „Stephan-Kurve“ (nach STEPHAN, 1944)

Bei einem Absinken des pH unter den kritischen Wert von 5,5 (STEPHAN, 1944) wird im Zahnschmelz das Gleichgewicht zwischen De- und Remineralisation gestört. Eine Demineralisation des Zahnes findet besonders an schwer zugänglichen Stellen wie den Grübchen und Fissuren sowie den approximalen und zervikalen Oberflächen statt (HANAKI et al., 1993). Hier soll Fluorid karioprotektiv wirken, indem es den mikrobiellen Kohlenhydratstoffwechsel und folglich die Säurebildung hemmt. Auch fördert es die Remineralisation beziehungsweise hemmt die Demineralisation (VAN LOUVEREN, 1990; TEN CATE und FEATHERSTONE, 1991; FISCHER et al., 1995; FEATHERSTONE, 1999).

Es wurde bereits vor 50 Jahren nachgewiesen, dass besonders ein häufiger Zuckerkonsum d.h. die Dauer der Zuckeranwesenheit, für eine Steigerung der Kariesaktivität verantwortlich ist, und dass häufige kleine Mengen schädlicher als gelegentliche größere Mengen sind (GUSTAFSSON et al., 1954).

Die Bildung von organischen Säuren stellt eine Stoffwechselleistung kariogener Bakterien dar, so dass auch die Säurebildungskapazität als Messgröße zur Kariesfrüherkennung verwendet wird. Diese Messgröße kann erstmalig auch zwischen Bakterienaktivität und –passivität unterscheiden.

Aus der Zahl der kariogenen Bakterien allein kann nicht auf deren Aktivität rückgeschlossen werden: In der passiven Phasen bilden die vorhandenen Bakterien nur wenig Säuren, d.h. das Kariespotenzial ist zu diesem Zeitpunkt gering. Erst in Gegenwart von fermentierbaren Kohlenhydraten werden die Bakterien aktiv und produzieren Säuren. Hierbei steigt die Milchsäurebildung – bei unveränderter Bakterienzahl - um bis zum 25fachen des Ausgangswertes, wohingegen die Bildung anderer organischer Säuren, beispielsweise Essig- und Propionsäure weitgehend unverändert bleibt (MARGOLIS et al., 1993a; MARGOLIS et al., 1993b; MARGOLIS und MORENO, 1994; GAO et al., 2001. Das Kariesrisiko steigt proportional zur Säuremenge an (MARGOLIS et al., 1993b; BERGSTRÖM et al., 2000; VAN RUYVEN et al., 2000).

1.1.2 Parodontitis

Unter den Begriffen „Parodontitis“ oder „Parodontopathie“ wird eine Reihe unterschiedlicher Erkrankungsformen zusammengefasst. Zunächst wurden in Abhängigkeit vom Erkrankungsalter vier hauptsächliche Formen unterschieden (SCHRÖDER, 1987). Diese Einteilung wurde 1999 durch den internationalen Workshop für die Klassifizierung der Parodontalerkrankungen revidiert und die Parodontalerkrankungen an Hand klinischer, radiographischer und anamnestischer Kriterien neu kategorisiert (ARMITAGE, 1999). Beide Einteilungen (Tabelle 2) sind derzeit noch parallel gebräuchlich.

Tabelle 2: Klassifikationen der Parodontitiden

	SCHRÖDER, 1987	ARMITAGE, 1999
I	Adulte Parodontitis (AP) (Erwachsene über 35 Jahre) Rezidivierende Parodontitis Nekrotisierende ulzerative Parodontitis Parodontitis assoziiert mit systemischen Erkrankungen	Chronische Parodontitis: lokalisiert (bis zu 30% der Zahnflächen) generalisiert (über 30%) rezidivierend
II	Early-onset periodontitis (EOP) (unter 35 Jahre) präpubertär (PP): lokalisiert oder generalisiert juvenile Parodontitis (JP) (Pubertät bis etwa 20 J.): lokalisiert (LJP) oder generalisiert (GJP) rasch progredient (RPP) (20-35 Jahre)	Aggressive Parodontitis <ul style="list-style-type: none"> • lokalisiert • generalisiert • rezidivierend
III		Parodontitis als Manifestation systemischer Erkrankungen (hämatologisch oder genetisch bedingt)
IV		Nekrotisierende Parodontitis

Im Gegensatz zur rückläufigen Tendenz der Karieserkrankung, besonders bei Kindern und Jugendlichen, nimmt die Prävalenz von Parodontitiden zu. Hier sind eher Erwachsene, vor allem ältere Menschen, betroffen. Beispielsweise beschreibt die Dritte Deutsche Mundgesundheitsstudie DMS III, dass ein Drittel der 35-44jährigen in den neuen und 10% in den alten Bundesländern Parodontalerkrankungen aufweisen. Bei 65-74jährigen haben sich die entsprechenden Prozentsätze auf 41,1% und 21,1% erhöht (MICHEELIS und REICH, 1999). Parodontologische Ursachen sind insgesamt zu 46,0% an allen Zahnverlusten beteiligt und in der Altersgruppe der über 45jährigen deutlich häufiger als alle anderen Ursachen zusammen. Das Risiko, einen Zahn zu verlieren, der in einem entzündlich veränderten Parodont steht, ist gegenüber gesunden Parodontien auf das 46fache erhöht (SCHÄTZLE et al., 2004).

An der Entstehung der parodontalen Erkrankung sind funktionelle und endogene Störungen beteiligt, primär sind entzündliche Reaktionen des marginalen Parodonts aber durch bakterielle Zahnbeläge, Plaque, bedingt (DARWISH et al., 1978). Unter dem Begriff Plaque versteht man bakterielle Auflagerungen auf Zähnen oder auf Zahnersatz, die sich in einem sogenannten Biofilm organisiert haben (LANG et al., 1999).

Die kausale Beziehung zwischen Gingivitis und bakteriell bedingter subgingivaler Plaque wurde bereits vor 40 Jahren erkannt (LÖE et al., 1965) und in der Folgezeit bestätigt (PAGE und SCHROEDER, 1976; LISTGARTEN und HELLDEN, 1978). Die Plaque wird mit gramnegativen, fakultativen oder obligaten Anaerobiern besiedelt, die einerseits das Gewebe direkt durch Toxine, Kollagenasen, Proteasen oder ihre metabolischen Produkte wie beispielsweise Ammoniak, Schwefelwasserstoff oder Indol schädigen. Andererseits entsteht eine indirekte Schädigung durch Aktivierung akuter Entzündungsvorgänge und immunologischer Reaktionen des Wirtsorganismus (SLOTS und GENCO, 1984).

Die komplexe mikrobielle Flora der Mundhöhle beherbergt annähernd 500 verschiedene Bakterienspezies sowie Hefen, Mykoplasmen und Viren (MOORE und MOORE, 1994; WILSON et al., 1997; SOCRANSKY und HAFFAJEE, 2000), von denen allerdings nur wenige Arten als Parodontitiserreger bedeutsam sind. Eine besondere Rolle spielen in diesem Zusammenhang *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* und *Porphyromonas gingivalis* (GREENSPAN, 2001). Während *Actinobacillus actinomycetemcomitans* etwa 10% der physiologischen Mundflora stellt (TERVONEN et al., 1994), wird *Porphyromonas gingivalis* als wesentlich für die Entstehung und Unterhaltung der aktiven parodontalen Läsion angesehen (VON TROIL-LINDEN et al., 1995)). Entscheidender als der Nachweis einer einzigen Spezies ist aber die Zusammensetzung der Mikroflora (THEILADE, 1986). Mehrere, bestimmte orale Mikroorganismen kommen häufig gemeinsam vor. Auf Grund statistischer Analysen werden solche Gruppen als Cluster zusammengefasst (Abbildung 3) und mit bestimmten parodontalen Erkrankungen aber auch parodontaler Gesundheit in Verbindung gebracht. Beispielsweise ist der sogenannte „rote Komplex“ oder „rote Cluster“ häufig mit Sondierungsblutungen und erhöhten Taschentiefen vergesellschaftet (ZAMBON, 1985; BUENO et al., 1998; YANG et al., 2004).

Actinobacillus actinomycetemcomitans ließ sich keinem der Cluster zuordnen. Dieser Erreger tritt in verschiedenen Serotypen auf. Besonders Serotyp b tritt verstärkt bei aggressiven Formen der Parodontitis auf (ZAMBON, 1985; BUENO et al., 1998; YANG et al., 2004).

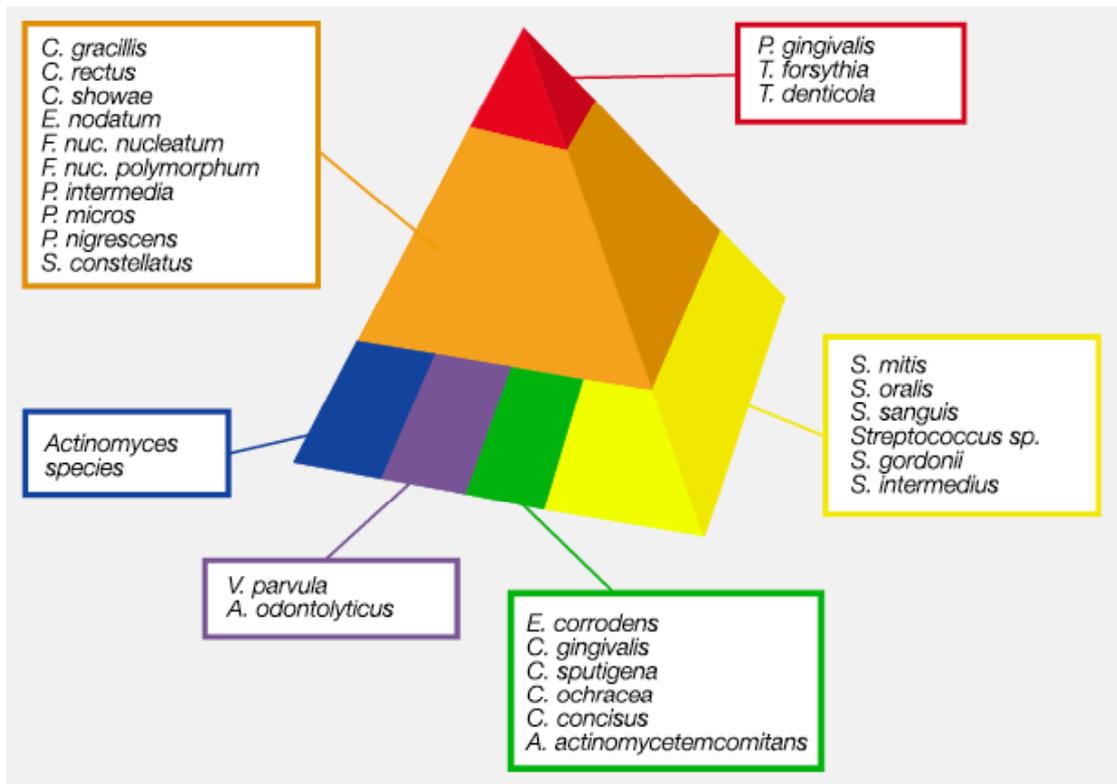


Abbildung 3: Bakterielle Cluster der subgingivalen Plaques (nach: SOCRANSKY und HAFFAJEE, 2002)

A = Actinomyces

C. gracilis, rectus, showae = Campylobacter gracilis, rectus, showae

C. concisus, gingivalis, ochracea, sputigena = Capnocytophaga concisus, gingivalis, ochracea, sputigena

E = Eubacterium

F. nuc. = Fusobacterium nucleatum

P. gingivalis = Porphyromonas gingivalis

P. intermedia, nigrescens = Prevotella intermedia, nigrescens

P. micros = Peptostreptococcus micros

S = Streptococcus

T. denticola = Treponema denticola

T. forsythia = Tannerella forsythia

V. parvula = Veillonella parvula

Während der Plaquebildungs- und Reifungsphase ändert sich die Zusammensetzung der Mikroflora: In der Anfangsphase enthält die noch dünne Plaque überwiegend grampositive Kokken und Stäbchen (LISTGARTEN und HELLDEN, 1978; SLOTS und GENCO, 1984); gegen diese Keimpopulationen sind die Abwehrmechanismen der Gingiva wie beispielsweise Sulkusflüssigkeit,

Leukozyten und Epithelansatz in der Regel noch ausreichend effektiv, so dass die Gingiva klinisch zunächst intakt bleibt (PFISTER et al., 1987). Wird die Plaque in dieser Phase aber nicht gründlich und nachhaltig entfernt, nimmt ihre Dicke und die Gesamtzahl der Mikroorganismen rasch zu (BRECX et al., 1983). Außerdem nehmen gramnegative Kokken und Stäbchen jetzt einen größeren Anteil ein. Da in der Tiefe der Zahnfleischtaschen und der Plaque anaerobe Verhältnisse bestehen, steigert sich die Anzahl an Anaerobiern (SLOTS und GENCO, 1984; PLAGMANN, 1998).

Nicht entfernte Plaques verkalken oft und bilden Zahnstein und Konkremente, die sich, wenn sie sich unterhalb des Gingivasaumes befinden, nicht ohne chirurgische Maßnahmen von der Wurzel ablösen lassen (LOESCHE und GROSSMAN, 2001). Eine mechanische Plaqueretention begünstigt die Entstehung einer Parodontitis erheblich; neben individuell mangelhafter Mundhygiene sind hier auch iatrogene Faktoren wie Randspalten oder eine Beeinträchtigung der Pflegefähigkeit, z. B. durch Überextension von Restaurationen, von Bedeutung (GREENSPAN, 2001).

Die entzündliche Reaktion des Zahnfleisches umfasst ein Einwandern von neutrophilen Granulozyten in das Saumepithel mit resultierender Entstehung eines Leukozytenwalls am Sulkusboden. Dort wird Kollagen abgebaut, der koronal-marginale Bereich des Saumepithels aufgelockert und der Epithelansatz zum Teil aufgelöst. Im hierdurch entstehenden Sulcus gingivae breitet sich die Plaque apikalwärts aus, und es entstehen Zahnfleischtaschen. Die Entzündungsvorgänge verlagern sich entlang der Wurzel apikalwärts (PLAGMANN, 1998).

Eine parodontale Tasche mit einem subepithelialen Infiltrat zeichnet sich durch ein dünnes fragiles Taschenepithel und ein dichtes subepitheliales Geflecht dilatierter, spröder Arteriolen, Kapillaren und Venolen aus. Sondiert man eine solche Tasche vorsichtig mit einer Parodontalsonde, kommt es zu einer Verletzung der Gefäße des subepithelialen Plexus und zu einer Blutung in die paro-

dontale Tasche. Diese lässt sich spätestens 30 Sekunden später als Blutung am Gingivarand feststellen. Das Bluten auf Sondieren (Bleeding on Probing = BOP) ist ein Hinweis auf die Existenz eines subepithelialen Infiltrats und damit auf die parodontale Entzündung (EICKHOLZ, 1999).

Die Ausdehnung des gingivalen Sulkus bzw. der parodontalen Tasche reicht koronal vom Gingivarand bis zur koronalsten Ausdehnung des Epithelansatzes, wobei eine genaue Bestimmung der Ausdehnung dieser Strukturen nur mit histometrischen Verfahren möglich ist. Klinisch kann die Erhebung der Sondierungstiefe (ST) zur Bestimmung der koronoapikalen Ausdehnung beziehungsweise der Tiefe der parodontalen Tasche beitragen (GIBBS et al., 1988).

Im Gegensatz zur Gingivitis geht bei der fortgeschrittenen Parodontitis das Attachment verloren, so dass ein Knochenabbau beobachtet werden kann (TAICHMAN und LINDHE, 1989). Dieser geschieht am häufigsten in horizontaler Richtung, d. h. die Höhe des alveolären Knochens zirkulär um den Zahn reduziert sich. Darüber hinaus gibt es auch eine vertikale Form des Knochenabbaus, bei der sich der Knochen an einer oder mehreren Stellen in apikaler Richtung an der Wurzeloberfläche entlang abbaut, während der umgebende Knochen stehen bleibt (CARRANZA, 1996).

Allgemein anerkannt ist eine beträchtliche Risikoerhöhung für das Entstehen parodontaler Erkrankungen durch Diabetes mellitus, Rauchen, niedrigen Sozialstatus sowie körperliche und/oder geistige Behinderungen (KAVANAGH, 1998; MILGROM und REISINE, 2000). Aber auch die Parodontitis selbst kann das Auftreten anderer Allgemeinerkrankungen begünstigen. So wird ein Zusammenhang mit koronarer Herzkrankheit, Apoplex, Diabetes mellitus und auch Frühgeburten vermutet (PAQUETTE, 2002).

1.2 Nachweis spezifischer Leitkeime der Karies und Parodontitis

1.2.1 Mikrobiologischer Nachweis

Traditionell werden zum mikrobiologischen Nachweis von Parodontitiserregern zunächst Kulturen angelegt. Als obsolet gelten heute die Dunkelfeld- und Phasenkontrastmikroskopie, mit denen erstmalig pathologische Veränderungen der oralen Mikroflora nachgewiesen werden konnten. Es können jedoch nur Morphotypen wie Stäbchen/Filamente/Kokken/Spirochäten oder beweglich/unbeweglich bei subgingivalen Plaqueproben unterschieden werden (BEIKLER und KARCH, 2005).

Eine Speziesdiagnose ist bei angezüchteten Kulturen erst nach weitergehender Spezifizierung der Erreger möglich. Im Bereich der Kariesdiagnostik ist hier der sogenannte Snyder-Test von historischer Bedeutung. Er wurde besonders zum Nachweis von Laktobazillen angewendet. Hierzu wurde Abstrichmaterial auf Tomatensaftagar inkubiert, der mit Hilfe von Natronlauge oder Milchsäure auf einen pH von 4,5 eingestellt worden war. Bei Vorhandensein von Laktoazillen fand nach 24 Stunden Inkubation bei 37°C ein Farbumschlag des Indikatorfarbstoffs Bromkresolgrün von grün nach gelb statt (SYNDER und TEACHOUT, 1942). Dieser Test wurde durch die Entwicklung des Rogosa-Agars abgelöst, der ein selektives Anzüchten von Laktobazillen bei niedrigem pH ermöglicht (ROGOSA et al., 1951). Andere selektive Verfahren wurden für den Nachweis von Mutans-Streptokokken entwickelt, beispielsweise die Verwendung von Mitis-salivarius-Bouillon (GOLD et al., 1973), der Bacitracin zugesetzt wird, um das Wachstum anderer Bakterien zu unterdrücken (KNEIST, 1998).

Auch wenn die klassische Vorgehensweise mit Bakterienanzüchtung und folgender Differenzierung bis heute als „bakteriologischer Goldstandard“ gilt und den besonderen Vorteil von möglichen Resistenzprüfungen bietet, ist sie auch mit erheblichen Nachteilen behaftet:

1. Vorwiegend anaerob wachsende Erreger sterben häufig bereits bei der Probennahme ab. Nur etwa 50% der oralen Mikroflora konnte bisher mit Standardverfahren kultiviert werden (PASTER et al., 2001)
2. Die Kultivierung und anschließend erforderliche Subkultivierung ist sehr zeitaufwendig und kann leicht zwei Wochen in Anspruch nehmen.
3. Durch die vielen Arbeitsschritte und aufwändigen Verfahren ist die mikrobiologische Analyse meist sehr kostenintensiv (RÖTGER, 2003).

Um das Verfahren abzukürzen – und auch um mögliche Fehlerquellen zu minimieren – wurden kommerziell erhältliche Testkits entwickelt, die mit einfachen Mitteln auf vorgefertigten Nährbodenträgern mit speziegerichteten Wachstumsbedingung bestimmte Leitkeime nachweisen: Mitis-salivarius-Bouillon mit Bacitracin und Rogosa-Agar stellen auch heute noch die geeigneten Medien für die Routinediagnostik von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen dar. Die ersten kommerziell erhältlich Testkits, die auch in der zahnärztlichen Routinediagnostik einen schnellen Nachweis dieser Spezies ermöglichten, waren die derzeit noch verfügbaren Tests Dentocult® SM Strip Mutans (JENSEN und BRATTHALL, 1989) und Dentocult® LB (LARMAS, 1975) (s. Kap. 3.2.2)

Ein anderes Prinzip als den direkten Erregernachweis nutzte der sogenannte BANA-Test, der „chair-side“ durchzuführen ist. Der BANA-Test (Benzoyl-DL-Arginin- β -Naphthylamid) beruht darauf, dass zahlreiche parodontopathogene Mikroorganismen Trypsin-ähnliche Proteasen bilden und daher das Trypsin-ähnliche BANA spalten können (JERVOE-STORM et al., 1992). Da einer der bedeutendsten Erreger, *Actinomyces actinomycetemcomitans*, hierzu aber nicht in der Lage ist und folglich mit dem BANA-Test nicht nachgewiesen werden kann, so dass sich dieser Test nur eingeschränkt für die Diagnostik eignet. Auch andere Enzymtests besitzen nur eine limitierte Aussagekraft, da sie nur bestimmte Bakteriengruppen nachweisen können (BEIKLER und KARCH, 2005). Immunoassays mit mono- und polyklonalen Antikörpern konnten sich auf

Grund ihrer aufwändigen Durchführung, hoher Kosten und dem Auftreten von Kreuzreaktionen nicht für die Routinediagnostik durchsetzen (RÖTGER, 2003).

1.2.2 Gentechnische Methoden

Gentechnische Methoden werden seit Anfang der 1990er Jahre zum Nachweis von Leitkeimen der Karies und Parodontitis mit Erfolg angewendet und geschätzt, da sie einerseits sehr empfindlich reagieren und andererseits auch bereits abgestorbene Bakterien sicher nachweisen können. Dies ist von besonderer Bedeutung bei Mikroorganismen, die unter streng anaeroben Bedingungen leben und bei Kontakt mit dem Luftsauerstoff sofort absterben (BEIKLER und KARCH, 2005).

Auf dem Gebiet der Molekularbiologie wurden zahlreiche Verfahren erprobt, und es finden ständige Weiterentwicklungen statt, so dass an dieser Stelle nur auf diejenigen Methoden eingegangen werden soll, die im Rahmen kommerziell verwendeter Tests verfügbar sind. Sie lassen sich in Gensondentests und PCR-Verfahren unterscheiden.

Gensonden dienen der selektiven Detektion von Leitbakterien. Es werden fluoreszenz- oder enzymmarkierte Nukleinsäuren verwendet, entweder das Gesamtgenom oder rekombinante/plasmidgebundene genomische DNA oder synthetische Oligodeoxynukleotide wie 16S-rRNS.

Je nach dem bakteriellen Zielmolekül unterscheidet man zwischen DNA- und RNA-Hybridisierung. Bei beiden Verfahren wird zunächst die DNA-/RNA-Fraktion isoliert, immobilisiert und anschließend mit einer markierten, bakterienspezifischen Basensequenz (Gensonde) zusammengegeben. Der Test ist positiv, falls eine Hybridisierung stattfindet, d.h. wenn die Gensonde hundertprozentig komplementär zu der zu testenden Substanz ist. Vorteil der DNA-Gensonden ist, dass DNA als Zielmolekül sehr stabil ist und falsch negative Ergebnisse nahezu ausgeschlossen sind (HAFFAJEE et al.,

1992). Bakterielle RNA als Zielmolekül ist instabiler, liegt jedoch in der Zelle in wesentlich größeren Mengen vor als DNA, so dass die Methode insgesamt sensitiver ist (CONRADS et al., 1995). Beide Verfahren erlauben heute den gesamtgenomischen Nachweis aller bislang bedeutsam erscheinender Parodontitiserreger, wobei für einige Bakterienspezies wie beispielsweise *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Campylobacter rectus* und *Tannerella forsythia* klonierte Plasmidsonden entwickelt wurden. Dies war erforderlich, da die genannten Keime in hohem Maße Kreuzhybridisierungen mit anderen Spezies, vor allem *Hämophilus*, zeigten. Durch Klonen von DNA-Bruchstücken in einem Plasmid, welches keine Kreuzhybridisierung zeigte, konnten spezifische Sonden gewonnen werden (SMITH et al., 1989; ALBANDAR et al., 1990; HAFFAJEE et al., 1992).

Die Sensitivität der DNA-Hybridisierung kann weiter dadurch erhöht werden, dass zunächst eine kleine Ribosomen-Untereinheit, die 16S-rRNA, mit Primern hochamplifiziert wird und erst in einem zweiten Schritt die Detektion der Erreger über spezifische DNA-Sonden innerhalb der variablen Genregionen des amplifizierten Produktes erfolgt. Sonden, die sich gegen die 16S-rRNA richten, wurden erstmals 1988 eingesetzt, um *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* und *Actinobacillus actinomycetemcomitans* nachzuweisen (CHUBA et al., 1988).

Insgesamt wird die Sensitivität mit etwa 10^3 Keimen/Probe angegeben. Damit ist sie höher als bei mikrobiologischen Verfahren, aber geringer als bei der PCR.

Mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) können noch winzige DNA-Mengen durch Vervielfältigung nachgewiesen werden. Hierbei wird ein speziespezifischer Genbereich zwischen zwei flankierende Primer-Moleküle eingeschlossen, mit Hilfe einer hitzestabilen Polymerase amplifiziert. Der Nachweis der amplifizierten Nukleinsäuren findet mittels einer sogenannten Hybridisierungsreaktion statt, d. h. es wird erneut ein chemisch markiertes erregerspezifisches

sches Nukleinsäurestück (Sonde) an das Reaktionsprodukt der Vermehrungsreaktion gebunden, wodurch dieses sichtbar gemacht wird (RASSHOFER, 1999). Die PCR erreicht die höchste Sensitivität aller Verfahren mit etwa 100 Keimen/Probe, allerdings sind bis heute – wie auch bei den Gensondentests – keine Resistenzprüfungen möglich.

Als „speziesspezifischer Genbereich“ wird bei der PCR wiederum beispielsweise 16S-rRNA eingesetzt (SLOTS et al., 1995; ASHIMOTO et al., 1996). Speziell zum Nachweis von Streptokokken kann eine PCR verwendet werden, die die speziesspezifische Region des Glycosyltransferase-Gens nutzt (YANO et al., 2002). Glycosyltransferasen benötigen Saccharose als Substrat, um extrazelluläre Polysaccharide zu synthetisieren, die ihrerseits die Adhäsion und Akkumulation oraler Bakterien auf Zahnoberflächen erleichtern (MONHOIS et al., 1999). Mit Hilfe der speziesspezifischen Primer können erfolgreich *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. oralis* und *S. gordonii* voneinander unterschieden werden (YANO et al., 2002; HOSHINO et al., 2004). Die Verwendung mehrerer speziesspezifischer Primer in einer einzigen PCR-Reaktion ermöglicht den Nachweis mehrerer verschiedener Spezies in einem einzigen Arbeitsdurchgang („Multiplex-PCR“) (WAHLFORS et al., 1995; TRAN und RUDNEY, 1996; CONRADS et al., 1999). Diese Methode nutzt der LCL®-Karies-Test, der zur Absicherung eines niedrigen Kariesrisikos verwendet wird (LCL BIOKEY, 2006).

Durch eine Koppelung von PCR-Amplifikation und anschließender Verwendung speziesspezifischer DNA-Sonden ist ein semiquantitativer Nachweis des Zielmoleküls möglich. Dieses Prinzip nutzen die Tests der Firma Hain Lifescience, Nehren, bei ihrer Tests zur Parodontaldiagnostik und zum Nachweis des Interleukin-1-Gens.

Ein quantitativer Nachweis kann unter Verwendung der thermostabilen Taq-Polymerase geführt werden. Da die Messungen zu jedem Zeitpunkt der Polymerase-Kettenreaktion durchgeführt werden können, wird das Verfahren auch

„Echtzeit-PCR“ bzw. „Real-time PCR“ genannt. Eine TaqMan-Sonde hat an ihrem einen Ende einen Akzeptor-Farbstoff („Quencher“), an ihrem anderen Ende einen Reporter-Fluoreszenzfarbstoff. Wenn die Taq-Polymerase, die zusätzlich eine Exonuclease-Aktivität besitzt, die Sonde während der Synthese des Gegenstranges am 5'-Ende abbaut, entfernen sich dadurch Quencher und Reporter voneinander und eine steigende Reporter-Fluoreszenz kann gemessen werden (LYONS et al., 2000; KUBONIWA et al., 2004; NONNENMACHER et al., 2004; YOSHIDA et al., 2004). Eine Real-time PCR bietet derzeit die Firma Gaba zur Detektion von 6 Parodontitis-Leitkeimen an.

1.3 Labortechnische Methoden zur Risikodiagnostik

1.3.1 Pufferkapazität des Speichels

Der Begriff Pufferkapazität beschreibt in Zusammenhang mit der Kariesprophylaxe die Fähigkeit des Speichels, den pH der Mundflüssigkeiten durch Neutralisation von Säuren und Basen bei einem Neutralwert von etwa 7,0 zu stabilisieren (SEEMANN, 1998).

Eine pH-Wert-Senkung, die beispielsweise durch Aufnahme von fermentierbaren Kohlenhydraten verursacht wurde, kann durch die Pufferkapazität des Speichels in einem gewissen Umfang neutralisiert werden (EDGAR et al., 1994; LAGERLÖF und OLIVEBY, 1994; TENOVUO, 1997). Als kritischer Wert wird ein pH von 5,5 angesehen. Unterhalb dieses Wertes setzt eine Demineralisation der Zahnschmelz ein (KEYES und JORDAN, 1963).

1.3.2 Speichelfließrate

Eine Verminderung des Speichelflusses erhöht das Kariesrisiko, und eine völlige Mundtrockenheit führt zur völligen Zerstörung des Gebisses (PIEPER und

HÜLSMANN, 1990). Daher kann das Kauen zuckerfreier Kaugummis als ein Bestandteil der Kariesprophylaxe angesehen werden, weil es die Speichelsekretion und die Remineralisation fördert (IMFELD et al., 1995). Eine kariostatische Wirkung der Kaugummis wird besonders durch den Zusatz von Fluorid (LAMB et al., 1993) oder Xylit (ISOKONGAS et al., 1991) erzielt.

Als kariesgefährdet gilt ein Patient, dessen Speichelfluss weniger als 1ml/min beträgt (MANNING und EDGAR, 1992). Eine echte Xerostomie (=Mundtrockenheit) ist aber selten und tritt meist im Gefolge einer Strahlentherapie (ROTHWELL, 1987) oder regelmäßiger Einnahme bestimmter Antidepressiva, Diuretika, Antihistaminika und Narkotika auf (PARVINEN et al., 1994).

Ein starker Speichelfluss begünstigt die Remineralisation und besonders der stimulierte Speichel ist reich an Kalzium- und Phosphationen (EDGAR et al., 1994; LAGERLÖF und OLIVEBY, 1994; TENOVUO, 1997).

1.3.3 Nachweis des Interleukin-1-Gens zur Prognose einer hohen Parodontitisgefährdung

Interleukin 1 (IL-1) wird – mit Ausnahme weniger Zellen – im gesunden Organismus nicht produziert. Als Reaktion auf Infektionen, mikrobielle Toxine und Komplementreaktionen kommt es in zahlreichen Zellen zu einer starken Expression von IL-1. Im Zusammenhang mit der Parodontitispathogenese spielt die Tatsache eine Rolle, dass IL-1 die Produktion von Prostaglandin E₂-Kollagenase induziert. Dieses Enzym hemmt die Kollagenbildung im Knochen und fördert die Knochenresorption (HEASMAN et al., 1993). Auch beeinflusst IL-1 die Ligamentzellen, die Zahn und Alveolarknochen verbinden, negativ und fördert so den Attachmentverlust (AGARWAL et al., 1998).

1.3.4 Weitere Parameter

Zahlreiche weitere Methoden wurden entwickelt, um bestimmte physikalisch-chemische Besonderheiten des Speichels, mögliche Virulenzfaktoren der Bakterien usw. zu analysieren, die spezifisch für die Karieserkrankung sind. Diese haben bisher nur wissenschaftliche Bedeutung und werden derzeit in der zahnärztlichen Praxis nicht routinemäßig angewendet.

Ohne Anspruch auf Vollständigkeit sind hier zu nennen:

- Lysozym (TENOVUO et al., 1991; BEN-ARYEH et al., 1993)
- Laktoferrin (BETTS und DAINTON, 1953; TENOVUO et al., 1991; SIKORSKA et al., 2002)
- Peroxidase (TENOVUO et al., 1991)
- Agglutinine (TENOVUO et al., 1991)
- Immunglobulin A (MARCOTTE und LAVOIE, 1998; SIKORSKA et al., 2002) und Antikörper gegen IgA (JOHANSSON et al., 1994)
- Phosphopeptide und Peptidfragmente (VITORINO et al., 2005)
- Glykoproteine (Mucine, Prolin-reiches Glukoprotein, Defensin, Cathelicidin, Histamine) (LEVINE et al., 1987; SLOMIANY et al., 1989; SLOMIANY et al., 1996; RUDNEY et al., 1999; VAN NIEUW AMERONGEN et al., 2004)
- Thiocyanat (KIRSTILA et al., 1998)
- Fettsäuren und ihre Monoester (HAYES, 1984; DEVULAPALLE et al., 2004; FERRANDO et al., 2005)

Im Rahmen der Parodontitisrisikodiagnostik werden ebenfalls aus dem Speichel zu erhebende Parameter gesucht. Beispielsweise zeigten sich der Gesamtproteingehalt, die Kallikreinkonzentration und die Aktivität der alkalischen Phosphatase bei Patienten mit einer Parodontitis im Vergleich mit gesunden Probanden erhöht, während die Fließrate des Ruhespeichels, die Aktivitäten von saurer Phosphatase und Amylase sowie die Natrium- und Kaliumkonzentrationen in beiden Versuchsgruppen nicht statistisch signifikant unterschiedlich ausfielen (KRANTZ-SCHÄFERS et al., 2002). Hierzu stehen weitergehende Untersuchungen noch aus.

2 Material und Methodik

Für die vorliegende Untersuchung wurde eine Literaturrecherche in großen medizinischen Datenbanken medline, DIMDI und den Online-Katalogen der deutschen Zentralbibliothek für Medizin durchgeführt. Besonders für den deutschen Sprachraum wurde in den zahnmedizinischen Archiven der Zeitschrift „Zahnärztliche Mitteilungen“ (www.zm-online.de) und des Spitta-Verlages, Balingen (www.dent-all.de) recherchiert. Als Suchwörter dienten u.a. dental caries, periodontitis, risk factors, saliva tests, plaque, buffer capacity, salivary flow rate, screening test, mutans streptococcus, lactobacillus, actinomyces actinomyces-temcomitans, dip slide test, PCR, DNA fingerprint, clinical study, predictive value. Weitere Literaturhinweise ergaben sich aus den Quellenangaben bereits aufgefundener Texte.

Für die Beschreibungen der einzelnen Tests wurde auf die Herstellerangaben zurückgegriffen. Die Hersteller bieten zudem auf ihren Internet-Homepages Hinweise auf relevante wissenschaftliche Literatur.

Für die Untersuchung der jeweiligen Testgenauigkeit wurden klinische Studien herangezogen und als Kriterien Spezifität und Sensitivität sowie der positive und negative Vorhersagewert gewählt, da diese am häufigsten als Beurteilungsgrundlage in den Studien herangezogen wurden. Diese Kriterien sind wie folgt definiert:

	Test positiv	Test negativ
Realität positiv	a	b
Realität negativ	c	d

$$\text{Sensitivität} = \frac{a}{a+c}$$

$$\text{Spezifität} = \frac{d}{b+d}$$

$$\text{Positiver Vorhersagewert} = \frac{a}{a+b} \quad \text{Negativer Vorhersagewert} = \frac{d}{c+d}$$

3 Ergebnisse

3.1 Probennahme

3.1.1 Entnahme von Speichelproben

Bei der Probennahme sollen reproduzierbare Bedingungen geschaffen werden. Beispielsweise wird empfohlen, fünf Minuten bis zwei Stunden vor der Probennahme die Zähne mit einer Zahnpasta ohne desinfizierende Zusätze putzen zu lassen. Anschließend sollte der Mund sorgfältig ausgespült werden. Es bietet sich an, das Zähneputzen in der zahnärztlichen Praxis mit bereitgestellter Zahnbürste und –pasta durchführen zu lassen, da hierdurch die Versuchsbedingungen weitgehend normiert werden können.

Die Tageszeit spielt bei der Speichelgewinnung keine Rolle (KNEIST et al., 2000a).

3.1.1.1 Gewinnung von stimuliertem Speichel, Bestimmung der Speichelfließrate

Unter „stimuliertem Speichel“ versteht man eine Probe, die während einer definierten Zeitspanne unter Kauen eines sterilen Paraffinstücks gewonnen wird. Bei Nichtakzeptanz von Paraffin kann stattdessen auch ein Zucker- und Xylit-freies Kaugummi verwendet werden (KNEIST et al., 2000a). Vor Beginn der Speichelgewinnung sollte zunächst eine Minute auf dem sterilen Paraffin gekaut und der entstehende Speichel abgeschluckt werden, um den pH-Wert in der Mundhöhle zu neutralisieren.

Für die Messung der Pufferkapazität reicht ein Tropfen stimulierten Speichels aus. Für die Bestimmung der Speichelfließrate wird die Gesamtmenge des in fünf Minuten gewonnenen Speichels durch 5 dividiert. Eine physiologische Speichelfließrate beträgt über 0,7 ml/min.

3.1.1.2 Spatelmethode

Die sogenannte Spatelmethode wird beim Dentocult® SM verwendet (KNEIST et al., 2000b).

Nach fünf Minuten Kauen auf Paraffin wird ein angerauter Plastikspatel auf der Zunge des Patienten befeuchtet und durch die lose geschlossenen Lippen aus dem Mund gezogen, um überschüssigen Speichel vom Spatel zu entfernen. Der Spatel wird nun in ein Glasröhrchen gegeben, in dem sich eine Nährlösung befindet, und zwei Tage bei 37 °C bebrütet.

3.1.2 Entnahme von Proben von der Zunge

Die Probennahme von der Zunge wird für den Nachweis von Milchsäure genutzt, da auf dem Biofilm der Zunge vergleichbare Mengen Milchsäure wie in der Plaque gefunden werden. Zudem verläuft eine kohlenhydratinduzierte pH-Erniedrigung auf Zunge und Plaque annähernd synchron (FEJERSKOV et al., 1992). Ursache hierfür ist, dass die bakterielle Zusammensetzung an beiden Bereichen vergleichbar ist (KAZOR et al., 2003; SISSON et al., 2003). Im Gegensatz zum Speichel ist der Zungen-Biofilm relativ beständig, da er nicht durch jedes Trinken und Mundspülen verändert wird. Man kann den Zungenbiofilm als Reservoir für Bakterien ansehen, da diese aus dem Biofilm gelöst werden und den Speichel beladen (TOGELIUS et al., 1984; WOLFF et al., 1985).

3.1.3 Papierspitzenmethode

Zur Entnahme von subgingivaler Plaque werden sterile Papierspitzen (Abbildung 4) oder Küretten verwendet. Nach Trockenlegung und Entfernung der supragingivalen Plaque wird der Entnahmeort mit Watterollen isoliert. Die Papierspitze wird bis zum Fundus der parodontalen Tasche vorgeschoben, dort

etwa zehn Sekunden belassen, dann entnommen und in ein Transportröhrchen überführt.



Abbildung 4: Entnahme subgingivaler Plaque mit einer Papierspitze (links) und Einbringen der Papierspitze in ein Eppendorf-Gefäß (rechts) (STELZEL, 2003)

3.1.4 Wangenabrieb

Die Probennahme mittels Wangenabrieb wird für die Bestimmung des genetischen Parodontitisrisikos verwendet.

Hierzu wird mit einem sterilen Abstrichtupfer 20-30 Sekunden über die Wangenschleimhaut des Patienten gestrichen. Nach einminütiger Lufttrocknung wird der Tupfer in ein steriles Transportgefäß gegeben.

3.2 **Kariesrisikodiagnostik**

3.2.1 Übersicht

Tabelle 3: Übersicht über kommerziell erhältliche Tests zur Kariesrisikodiagnostik

Nachweis	Handelsname (Hersteller)	Prinzip	Durchführung/ Dauer
Pufferkapazität des Speichels	BuffCheck® (Fa. Hain Lifescience, Nehren)	pH-Bestimmung nach Säurestimulation	Praxis/ sofort
Pufferkapazität des Speichels	CRT® buffer (Fa. Ivoclar Vivadent, Ellwangen)	pH-Bestimmung	Praxis/ sofort
Pufferkapazität des Speichels	Dentobuff® (Fa. Orion Diagnostica, Espoo/Finnland)	pH-Bestimmung	Praxis/ sofort
Mutans-Streptokokken	Dentocult® SM Strip mutans, Dentocult® SM Site Strips (Fa. Orion Diagnostica, Espoo/Finnland)	Spatel-Methode	Praxis/ 2 Tage
Laktobazillen	Dentocult® LB (Fa. Orion Diagnostica, Espoo/Finnland)	dip-slide	Praxis/ 4 Tage
Mutans-Streptokokken Laktobazillen	CRT® bacteria (Fa. Ivoclar Vivadent, Ellwangen)	dip-slide, doppelseitig	Praxis/ 2 Tage
Mutans-Streptokokken Laktobazillen	CarioCheck®-Plus (Fa. Hain Lifescience, Nehren)	dip-slide, doppelseitig	Praxis/ 2 (-3)Tage
Mutans-Streptokokken	LCL®-Karies-Test (Fa. LCL biokey, Aachen)	2 Phasen: 1, Gensonde 2. PCR Glycosyltransferase	Labor/ ca. drei Tage
Milchsäureaktivität der Bakterien	Clinpro®Cario L-Pop (Fa. 3M Espe, Seefeld)	Bestimmung der Laktatdehydrogenase-aktivität	Praxis/ sofort

3.2.2 Mikrobiologischer Nachweis von Mutans-Streptokokken und Laktoazillen

3.2.2.1 Dentocult® SM

Testprinzip:

Die Dentocult® SM-Methode (Fa. Orion Diagnostika, Espoo/Finnland) basiert auf der Fähigkeit von *S. mutans*, auf einem Kunststoffstreifen zu haften. Sie wurde als erster kommerzieller Test zur Bestimmung des Kariesrisikos mittels Speicheltests eingeführt (JENSEN und BRATTHALL, 1989). Es handelt sich um einen Spateltest, bei dem ein Spatel mit der Probe in einer Nährlösung aus *Mitis-salivarius-Bouillon* (GOLD et al., 1973), inkubiert wird.

Durchführung und Auswertung

Zur Durchführung des Tests wird mindestens 15 Minuten vor Verwendung des Dentocult® SM-Tests eine (mitgelieferte) Bacitracin-Tablette in das Gefäß mit Nährlösung gegeben. Das Antibiotikum dient dazu, das Wachstum anderer Bakterien als *S. mutans* zu unterdrücken.

Mit Hilfe eines Kunststoffspatels wird eine Speichelprobe des Patienten entnommen, der befeuchtete Spatel in ein Glasröhrchen mit Nährlösung gegeben und zwei Tage bei 37 °C inkubiert.

Nach Ablauf dieser Zeit haben sich auf dem Spatel Bakterienkolonien gebildet, deren Menge einer von vier Kategorien eines Vergleichsmusters zugeordnet wird (Tabelle 4).

Tabelle 4: Auswertung des Dentocult® SM

Kategorie 0	0-10 ³ kbE/ml Speichel
Kategorie 1	10 ³ -10 ⁵ kbE/ml Speichel
Kategorie 2	10 ⁵ -10 ⁶ kbE/ml Speichel
Kategorie 3	> 10 ⁶ kbE/ml Speichel

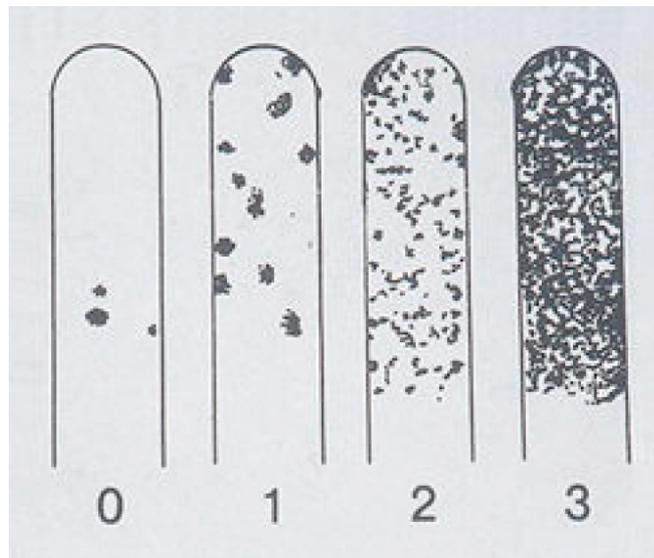


Abbildung 5: Vergleichsskala zur Auswertung des Dentocult® SM

Es können auch bis zu vier Proben, die mit einem sterilen Einmalpinsel entnommen wurden, auf dem Dentocult® SM Site Strip ausgestrichen werden. Die Ergebnisse stimmen mit der Einzelbeprobung weitgehend überein, wie die folgende Abbildung zeigt (Abbildung 6, KNEIST et al., 2000b). Dieser Test bietet sich an, wenn im Dentocult® SM Strip mutans-Test geringe Keimzahlen nachgewiesen wurden. Mit dem Site-Strip-Test kann in diesem Fall der Frage nachgegangen werden, ob die nachgewiesenen Mutans-Streptokokken von nur wenigen, aber besonders stark besiedelten Zahnflächen stammen.

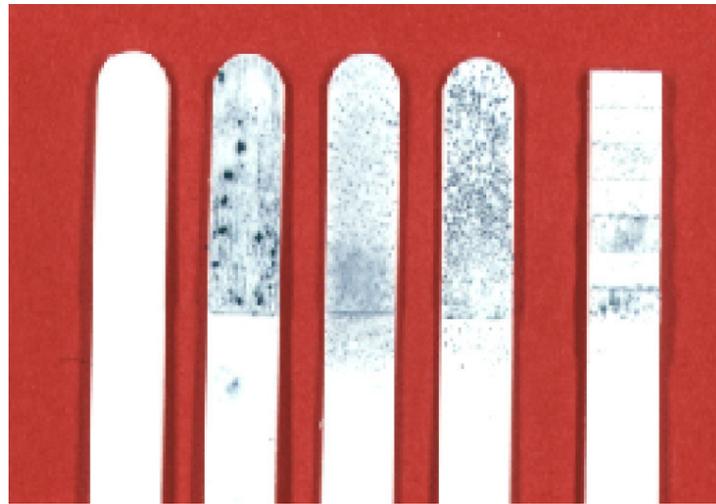


Abbildung 6: Dentocult® SM
 vier oben abgerundete Spatel: Dentocult®SM Strip mutans zur Auswertung einer Speichelprobe
 rechts: Dentocult®SM Site strip zur gleichzeitigen Auswertung von vier Speichelproben
 (KNEIST et al., 2000b)

Fehlerquellen:

Bei den mikrobiologischen Testbestecken besteht die Gefahr einer inkorrekten Ablesung der Teststreifen. Zum Einen kann die Ablesung dadurch erschwert sein, dass die Proben nicht den vorgegebenen Auswertemustern entsprechen, wie die folgenden Beispiele zeigen (HALFT et al., 2001). Zum Anderen besteht ein recht großer Unterschied bezüglich der Ergebnisse verschiedener Untersucher: Nach einer Studie von Adair et al. teilten drei Untersucher nur etwa 75 % der Proben eines mikrobiologischen Dip-slide-Tests übereinstimmend den entsprechenden Besiedlungsklassen zu. Dies wird damit erklärt, dass oft einzelne große Kolonien imponieren, während eine Vielzahl kleinerer Kolonien übersehen wird (ADAIR et al., 1994).

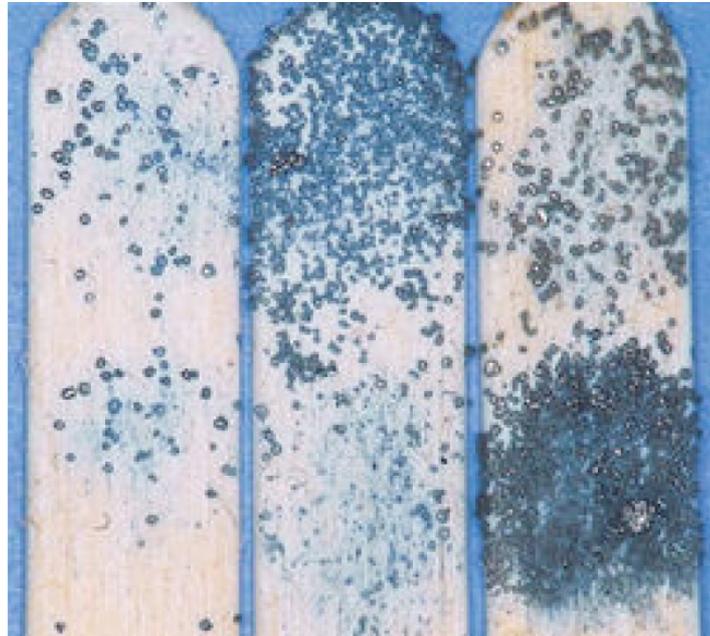


Abbildung 7: Dentocult®-SM Teststreifen, die sich nicht dem Auswerteschema zuordnen lassen (Auf jedem Testträger wurden zwei Plaqueproben aufgetragen) (HALFT et al., 2001)

3.2.2.2 Dentocult LB®

Testprinzip:

Auf dem synthetisch hergestellten Rogosa-Testagar lassen sich selektiv Laktobazillen bei einem niedrigen pH von 5,6 anzüchten (ROGOSA et al., 1951).

Durchführung und Auswertung:

Eine Speichelprobe wird gleichmäßig auf einen Träger gegeben (Dentocult® LB, Fa. Orion Diagnostica, Espoo/Finnland), der mit Rogosa-SL-Nährmedium beschichtet ist. Der Träger wird vier Tage bei 37°C bebrütet.

Die Auswertung erfolgt mittels einer Vergleichsskala, die eine Zuordnung zu vier Kategorien ermöglicht (Tabelle 5):

Tabelle 5: Auswertung des Dentocult® LB

Kategorie 0	etwa 10^3 kbE Laktobazillen/ml Speichel
Kategorie 1	etwa 10^4 kbE Laktobazillen/ml Speichel
Kategorie 2	etwa 10^5 kbE Laktobazillen/ml Speichel
Kategorie 3	etwa 10^6 kbE Laktobazillen/ml Speichel

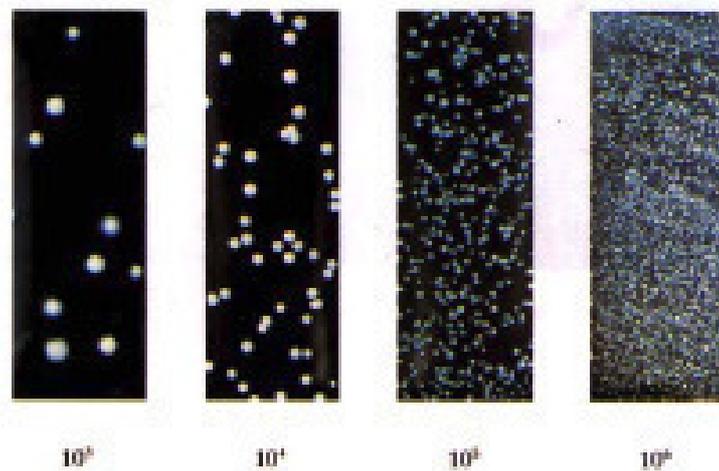


Abbildung 8: Vergleichsskala zur Auswertung des Dentocult LB®

Fehlerquellen:

Auf dem Rogosa-Agar können trotz seiner Selektivität auch Hefen wachsen. Diese imponieren bei niedrigen Koloniezahlen an Laktobazillen als matte, cremefarbene Kolonien. Bei Beträufeln mit Wasserstoffperoxid sprudeln die Hefekolonien im Gegensatz zu Laktobazillen (KNEIST, 1998).

3.2.2.3 CarioCheck® plus SM/LB

Testprinzip:

Bei dem System CarioCheck® SM/LB plus (Fa. Hain Lifescience, Nehren) handelt es sich um eine Dip-slide-Kombination, mit deren Hilfe die Konzentrationen an *S. mutans* und Laktobazillen bestimmt werden. Hierzu wird ein Eintauchnährboden („Paddel“) verwendet, der auf der einen Seite selektiv für *S. mutans* mit MSB und Bacitracin und auf der anderen Seite selektiv für Laktobazillen mit Rogosa-Agar beschichtet ist.

Durchführung und Auswertung:

Der Nährbodenträger wird dem Röhrchen entnommen und auf beiden Seiten mit etwa 1 ml stimuliertem Speichel befeuchtet. In das leere Röhrchen werden eine CO₂-Tablette und das Paddel gegeben und das Röhrchen aufrecht stehend bei 35-37°C für 48 Stunden bebrütet.

Die Auswertung des Tests kann dann sofort erfolgen. Es hat sich allerdings nach Herstellerangaben als günstig herausgestellt, das Röhrchen zunächst noch etwa 12 Stunden bei Raumtemperatur stehen zu lassen, da sich nach dieser Zeit die gewachsenen Kolonien leichter zählen lassen.

Ähnlich wie bei dem System Dentocult® SM wird der Eintauchnährboden mit Hilfe eines Auswertemusters beurteilt:

Tabelle 6: Auswerteschema für das System CarioCheck®

S. mutans

Klasse 0	< 10.000 Keime/ml Speichel	geringes Kariesrisiko
Klasse 1	10.000-100.000 Keime/ml Speichel	mittleres Kariesrisiko
Klasse 2	100.000-1.000.000 Keime/ml Speichel	erhöhtes Kariesrisiko
Klasse 3	> 1.000.000 Keime/ml Speichel	stark erhöhtes Kariesrisiko

Laktobazillen

Klasse 0	< 1.000 Keime/ml Speichel	geringes Kariesrisiko
Klasse 1	1.000-10.000 Keime/ml Speichel	mittleres Kariesrisiko
Klasse 2	10.000-100.000 Keime/ml Speichel	erhöhtes Kariesrisiko
Klasse 3	> 100.000 Keime/ml Speichel	stark erhöhtes Kariesrisiko

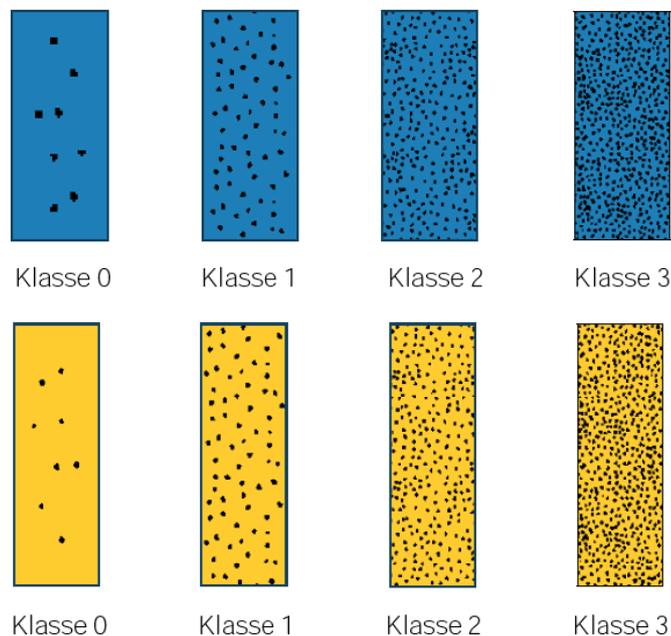


Abbildung 9: Auswertemuster für CarioCheck® plus
oben: S. mutans (blau), unten: Laktobazillen (gelb)

3.2.2.4 CRT® bacteria

Testprinzip:

Auch der Test CRT® bacteria (Fa. Ivoclar Vivadent, Ellwangen) ist ein doppelseitiger Dip-slide-Test, der in einem Durchgang Mutans-Streptokokken und Laktobazillen erfasst.

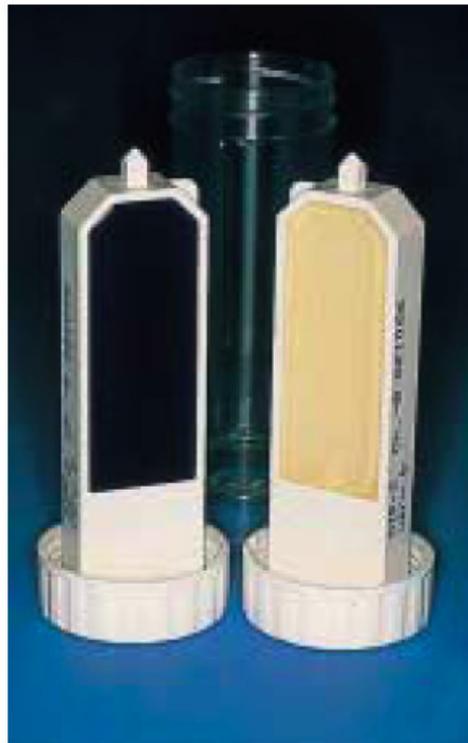


Abbildung 10: CRT®-Test zum gleichzeitigen Nachweis von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen (blaue Seite: Mutans-Streptokokken, gelbe Seite: Laktobazillen)

Durchführung und Auswertung:

Die Durchführung und Auswertung entsprechen dem Test CarioCheck®.

Fehlerquellen:

Die Fehlerquellen entsprechen denjenigen der übrigen Testkits zum mikrobiologischen Nachweis von *S. mutans* und Laktobazillen. Das Auftreten sogenannter Fremdkeime stört ein korrektes Ablesen der Befunde nicht (KNEIST und HEINRICH-WELTZIEN, 2001).

3.2.3 Bestimmung der Pufferkapazität des Speichels**3.2.3.1 CRT® buffer****Testprinzip:**

Der Test CRT® buffer (Fa. Ivovlar Vivadent, Ellwangen) ist identisch mit dem Dentobuff® (Fa. Orion Diagnostika, Espoo/Finnland). Es handelt sich um eine pH-Bestimmung. Auf einem säurebehandelten Teststreifen befindet sich ein pH-Indikator. Kann der Speichel die Säure abpuffern, so wird der pH-Wert steigen, d.h. sich die Farbe auf dem Teststreifen ändern.

Durchführung und Auswertung:

Ein Tropfen stimulierten Speichels wird auf den Indikator des Teststreifens so aufgetragen, dass dieser vollständig benetzt ist. Nach genau fünfminütiger Reaktionszeit wird aus dem Farbumschlag der pH-Wert des Speichels mittels der mitgelieferten Farbskala abgelesen (Abbildung 11).

Tabelle 7: Auswerteschema für den Test CRT® buffer

gelbbraun	pH ≤ 4,0	niedrige Pufferkapazität
grün	pH = 4,5-5,5	mäßige Pufferkapazität
blau	pH ≥ 6,0	hohe Pufferkapazität



Abbildung 11: Vergleichsskala zur Auswertung des CRT® buffer-Tests

Fehlerquellen:

Beim Entstehen von Mischfarben auf dem Indikatorfeld war im Allgemeinen die Benetzung unzureichend oder ungleichmäßig. Man legt in diesen Fällen der Bewertung den niedrigsten angezeigten pH-Wert zu Grunde beziehungsweise wiederholt den Test, falls keine Auswertung möglich ist.

3.2.3.2 BuffCheck®

Testprinzip:

Auch der Test BuffCheck® (Fa. Hain Lifescience, Nehren) dient der Bestimmung der Pufferkapazität des Speichels mit Hilfe von pH-Teststreifen. Die Teststreifen sind einzeln erhältlich oder Bestandteil des Systems CarioCheck® plus.

Durchführung und Auswertung:

Die Ermittlung der Pufferkapazität erfolgt in zwei Phasen.

1. Aus stimuliertem Speichel wird der pH-Wert des Speichels gemessen. Dieser sollte nahe 7,0, dem Neutralpunkt, liegen.
2. Der Patient sollte anschließend mehrere Schluck Zitronenwasser (4 ml Zitronensaftkonzentrat in etwa 0,1 l Wasser) zu sich nehmen und den Mund 30 Sekunden spülen. Nach Kauen eines Kaugummis über ungefähr zwei Minuten wird erneut stimulierter Speichel gewonnen und der pH-Wert bestimmt.

Im Rahmen des Systems CarioCheck® plus werden je nach dem Ergebnis der zweiten Bestimmung folgende Punktzahlen vergeben, wobei das Kariesrisiko mit zunehmender Punktzahl ansteigt:

1 Punkt: pH \geq 6,0

3 Punkte: pH 5,0-5,5

4 Punkte: pH \leq 5,0

Fehlerquellen:

Die Fehlerquellen entsprechen denjenigen der Methode CRT® buffer (s. Kap. 3.2.3.1).

3.2.4 Gentechnischer Nachweis von *S. mutans* und Laktobazillen

3.2.4.1 LCL®-Karies-Test

Testprinzip:

Bei dem LCL®-Karies-Testsystem (Fa. LCL biokey GmbH, Aachen) werden zwei unterschiedliche Verfahren nacheinander eingesetzt: 1. Gensonden, die Mutans-Streptokokken nachweisen, zur Erfassung erhöhter oder hoher Risiken und 2. die Polymerase-Kettenreaktion zur Bestimmung der Konzentration des Glycosyltransferase-Gens um niedrige Risiken abzusichern. D.h. die PCR wird nur eingesetzt, wenn beim Gensondentest keine relevanten Leitbakterien nachgewiesen werden konnten. Die Gensonden identifizieren 4 Spezies Mutans-Streptokokken (*S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. rattus*). Die PCR bestimmt die Konzentration des Glucosyltransferase-Gens.

Mit Hilfe der speichelgetränkten Watteröllchen, die der Probennahme dienen, wird routinemäßig zusätzlich die Pufferkapazität des Speichels bestimmt.

Durchführung und Auswertung:

Beide Tests werden jeweils sowohl aus Speichelproben als auch aus Abstrichmaterial durchgeführt. Hierzu werden seitens des Labors sterile Transportgefäße (Abbildung 12) geliefert, die aus einer Abstrich- und einer Röllchenkammer bestehen und auch einen Mini-Pinsel zur Entnahme von Abstrichmaterial enthalten.

Mit dem Pinsel wird gezielt an Risikobereichen wie beispielsweise Fissuren, Kreideflecken, verdächtigen Läsionen und Verfärbungen ein Abstrich entnommen und der Pinsel in die hierfür vorgesehene Kammer des Transportgefäßes gegeben.

Das Watteröllchen wird mit einer sterilen Pinzette dem Patienten auf die Zunge gegeben. Der Patient soll das Röllchen etwa 60 Sekunden durchkauen und auf diese Weise mit Speichel durchtränken. Anschließend wird es in das Transportgefäß zurückgegeben.

Das Transportgefäß wird zur weiteren Bearbeitung zusammen mit einem Befundbogen an das Labor geschickt und der Befund nach etwa drei Werktagen dem Einsender mitgeteilt.

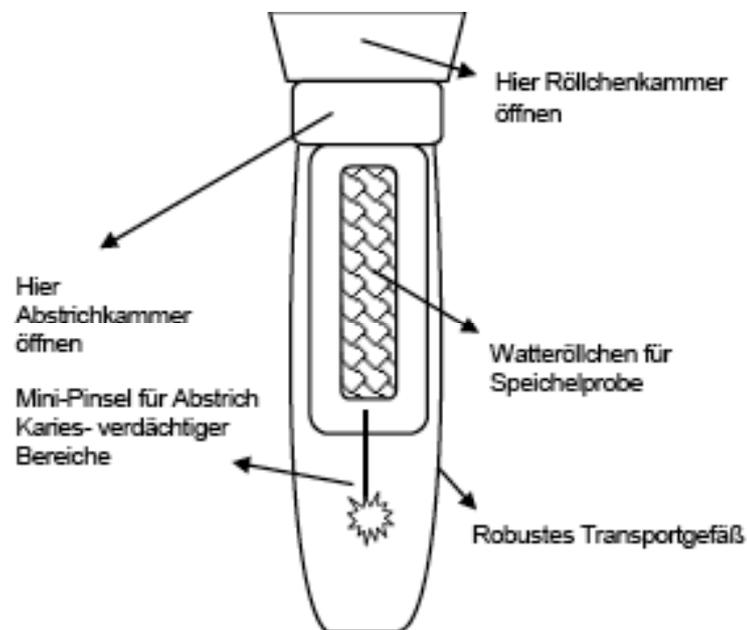


Abbildung 12: Transportgefäß mit Entnahmematerial für das LCL®-Karies-Testsystem

Typische Befunde des LCL-Tests können folgendermaßen aussehen (Tabelle 8):

Tabelle 8: Typische Befunde des LCL®-Tests

Kariesrisiko	Nachweismethode	Keimzahl/ ml Speichel	Keimzahl/ Abstrich
niedrig	Mutans-Streptokokken (Sonde)	negativ	negativ
	Glycosyltransferase-Gen (PCR)	negativ	(+)
hoch	Mutans-Streptokokken (Sonde)	10^5	10^6
	Glycosyltransferase-Gen (PCR)	*	*

* keine PCR, da Sondennachweis positiv

3.2.5 Nachweis der bakteriellen Stoffwechselaktivität mittels Milchsäure-Indikatoren

Testprinzip:

Mit Hilfe eines Milchsäure-Indikators wird die von kariogenen Bakterien freigesetzte Milchsäure gemessen. Hierdurch sind Rückschlüsse auf die Stoffwechselaktivität der Bakterien möglich. Derzeit befindet sich ein Testsystem im Handel: Clinpro®Cario L-Pop (Fa. 3M Espe, Seefeld).

Der Milchsäurenachweis erfolgt mit Hilfe des Enzyms Laktatdehydrogenase, dessen Aktivität proportional zur Menge der gebildeten Milchsäure ist.

Laktat wird unter der Einwirkung der Laktatdehydrogenase zu Pyruvat und NADH reduziert, und die gebildete NADH-Menge kann mit Hilfe eines blauen Farbstoffs gemessen werden.

Durchführung:

Das Testsystem Clinpro Cario L-Pop besteht aus einem Saccharose-haltigen Indikatorstäbchen und einem hierzu gehörigen Blister, der ein Reservoir mit einer dunkel- und einer hellblauen Reagens-Farbstoff-Lösung enthält.

Die Entnahme der Proben erfolgt mit dem Indikatorstäbchen auf der Zunge. Das Stäbchen wird flach auf die Mitte der Zunge gelegt und mit leichtem Druck mindestens viermal hin und her gedreht, bis es vollständig mit Speichel durchfeuchtet ist. Es wird anschließend in den Blister gesteckt, und der Inhalt des Blisters durch Kneten und Drücken durchmischt. Es läuft eine enzymatische Reaktionskette ab.

Testauswertung:

Nach zwei Minuten Reaktionszeit kann die stattgefundene Verfärbung mit einem neunstufigen Farbschema (Abbildung 13) verglichen und das Kariespotenzial bestimmt werden.

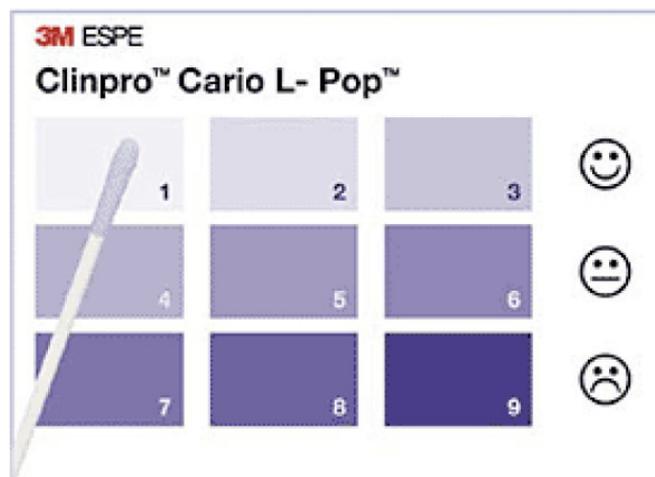


Abbildung 13: Neunstufige Farbskala des Milchsäure-Indikators Clinpro®Cario L-Pop (Erläuterungen siehe Text)

Bei der neunstufigen Farbskala des Clinpro®Cario L-Pop haben die einzelnen Farbfelder folgende Bedeutung und Konsequenzen:

- Feld 1-3: Die Mikroflora zeigt eine geringe Milchsäurebildungsrate, d.h., das generelle Kariesrisikomanagement ist gut. Eine normale Verlaufskontrolle ist akzeptabel.
- Feld 4-6: Die Mikroflora zeigt eine mittlere Milchsäurebildungsrate, d.h. das generelle Kariesrisikomanagement hat Schwächen. Eine engere Verlaufskontrolle und/oder Untersuchung ist wünschenswert.
- Feld 7-9: Die Mikroflora zeigt eine hohe Milchsäurebildungsrate, d.h., das generelle Kariesrisikomanagement ist zu überdenken. Eine intensive Untersuchung und Behandlung ist erforderlich.

Als Grenzwert für einen Farbumschlag von Feld 6 zu Feld 7 wurde eine Konzentration von 3mM festgelegt, da ab dieser Konzentration Laktat den Sättigungsgrad der Plaqueflüssigkeit mit Schmelzmineralien soweit erniedrigen kann, dass eine Demineralisation des Zahnschmelzes nicht mehr kompensiert werden kann (MARGOLIS und MORENO, 1994).

3.2.6 Ermittlung des Kariesrisikos mit Kombinationen aus kommerziellen Tests und anderen Parametern

3.2.6.1 CarioCheck® plus

Das Testsystem CarioCheck® erlaubt aus den Bestimmungen der Konzentrationen an *S. mutans* und Laktobazillen, der Pufferkapazität und der Speichelfließrate eine Abschätzung des Kariesrisikos nach folgendem Auswerteschlüssel:

Tabelle 9: Auswerteschlüssel zur Bestimmung des Kariesrisikos mit Hilfe des Systems CarioCheck® plus

S. mutans		Laktobazillen		Pufferkapazität		Fließrate	
Klasse	Punkte	Klasse	Punkte	pH	Punkte	ml/5min	Punkte
0	1	0	1	≥6,0	1	> 5	1
1	2	1	2	5,0-5,5	3	3 - 5	3
2	4	2	4	≤5,0	4	1 – 3	4
3	6	3	6			< 1	5

Gesamtpunktzahl:

2-6 Punkte	geringes Risiko
7-10 Punkte	mittleres Risiko
11-14 Punkte	erhöhtes Risiko
15-21 Punkte	stark erhöhtes Risiko

Das Ergebnis kann präzisiert werden, indem zusätzlich der Plaquebildungsindex (PFRI) nach Axelsson bestimmt und in Beziehung zur Konzentration an S. mutans gesetzt wird. Hierdurch soll sich die Genauigkeit der Kariesprognose auf 90% erhöhen (AXELSSON, 1992).

Der PFRI wird in zwei Sitzungen innerhalb von 24 Stunden durchgeführt. Während der ersten Sitzung erfolgt die Bestimmung der oben genannten Speicheltests und anschließend eine professionelle Zahnreinigung mit Entfernung aller Beläge. Am nächsten Tag wird die Plaque angefärbt und die Anzahl der Plaque auf jeweils acht Flächen/Zahn bestimmt. Es wird nach folgendem Schema die Anzahl an Zahnflächen mit Plaque auf die Anzahl der Zähne bezogen und der PFRI ermittelt:

Tabelle 10: Bestimmung des PFRI aus Gesamtzahl der Zähne und Anzahl an Plaqueflächen

Zähne	Maximale Anzahl an Plaqueflächen				
32	0-19	20-38	39-58	59-77	>77
31	0-18	19-37	38-56	57-74	>74
30	0-18	19-36	37-54	55-72	>72
29	0-17	18-35	36-52	53-70	>70
28	0-17	18-34	35-50	51-67	>67
27	0-16	17-32	33-49	50-65	>65
26	0-16	17-31	32-47	48-62	>62
25	0-15	16-30	31-45	46-60	>60
24	0-14	15-29	30-43	44-58	>58
23	0-14	15-28	29-41	42-55	>55
22	0-13	14-26	27-40	41-53	>53
21	0-13	14-25	26-38	39-50	>50
20	0-12	13-24	25-36	37-48	>48
19	0-11	12-23	24-34	35-46	>46
18	0-11	12-22	23-32	44-43	>43
17	0-10	11-20	21-31	32-41	>41
16	0-10	11-19	30-29	30-38	>38
15	0-10	10-18	19-27	28-36	>36
14	0-8	9-17	18-25	26-34	>34
PFRI	I	II	III	IV	V

Kariesrisiko:

S. mutans -Wert	I	II	PFRI III	IV	V
0	gering	gering	gering	gering	gering
1	mittel	mittel	erhöht	erhöht	erhöht
2	mittel	mittel	erhöht	stark erhöht	stark erhöht
3	mittel	mittel	erhöht	stark erhöht	stark erhöht

Als Konsequenz des kombinierten Tests werden folgende Frequenzen für Prophylaxebehandlungen mittels professioneller Zahnreinigung und Fluoridierung bei Kindern angegeben:

kein Risiko:	einmal jährlich
mittleres Risiko:	zweimal jährlich
erhöhtes Risiko:	vier- bis sechsmal jährlich
stark erhöhtes Risiko:	monatlich

3.2.6.2 Cariogramm

In Schweden wurde ein Computerprogramm entwickelt, das eine individuelle Abschätzung des Kariesrisikos erlaubt (HÄNSEL PETERSSON und BRATTHALL, 2000; HÄNSEL PETERSSON et al., 2003; BRATTHALL und HÄNSEL PETERSSON, 2005). Es kann von der Fakultät für Odontologie der Universität Malmö als kostenlose Download-Datei bezogen werden (<http://www.db.od.mah.se/car/cariogram/cariograminfo.html>).

Bei der Eingabe von mindestens sieben von zehn Parametern wird ein Tortendiagramm erstellt, das die Wahrscheinlichkeit für das Neuentstehen kariöser Läsionen aufzeigt und gleichzeitig verdeutlicht, an welchen Risikofaktoren Verbesserungen durchzuführen sind.

Folgende Parameter werden berücksichtigt:

- aktueller Kariesbefund
- vorhandene Allgemeinerkrankungen
- Ernährungsqualität (Zuckermenge)
- Ernährungsgewohnheiten (Frequenz der Zuckeraufnahme)
- Plaquemenge
- Konzentration von Mutans-Streptokokken im Speichel
- Fluoridanwendung
- Speichelfließrate
- Pufferkapazität des Speichels
- allgemeine klinische Beurteilung

Vom Programm werden die Antworten folgenden Bereichen zugeordnet (Abbildung 14):

1. Diet (Ernährung) - Frequenz der Nahrungsaufnahme wie auch deren Zusammensetzung
2. Bacteria - Plaquemenge wie auch qualitative Zusammensetzung
3. Susceptibility (Empfänglichkeit) - Resistenz der Zahnschmelz (Fluoridierung) und Qualität des Speichels
4. Circumstances (Umstände) - Kariöse Zahnschäden in der Vergangenheit und genereller Gesundheitszustand

und hieraus berechnet:

5. Chance - Die Wahrscheinlichkeit neue kariöse Zahnschäden in naher Zukunft zu vermeiden.

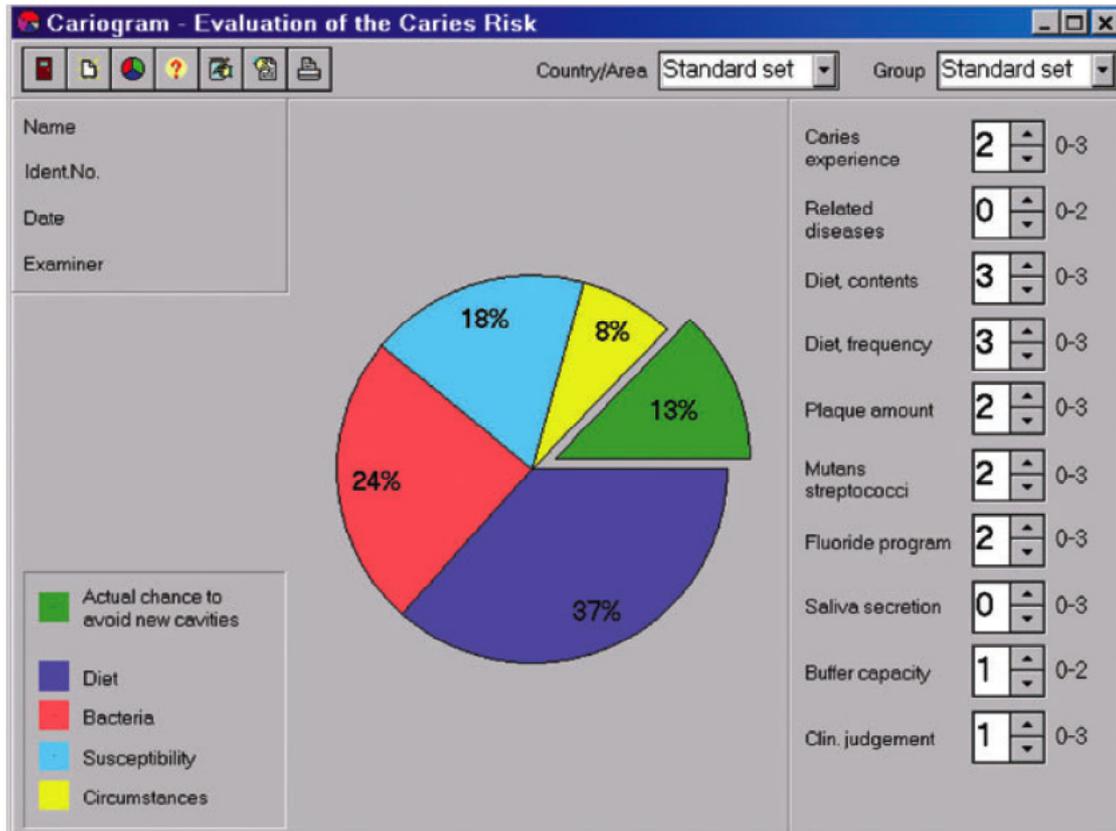


Abbildung 14: Beispiel für ein Tortendiagramm, das mit dem Cariogram® erstellt wurde
BRATTHALL et al., 2004 Vom Programm werden die eingegebenen Antworten den vier Bereichen Ernährung = diet, Bakterien = bacteria, Empfänglichkeit = susceptibility, Umstände = circumstances) zugeordnet und die Karieswahrscheinlichkeit (=chance) als Differenz im grünen Bereich hervorgehoben.

3.3 Parodontitisrisikodiagnostik

3.3.1 Übersicht

Tabelle 11: Übersicht über kommerziell erhältliche Tests zur Parodontitisrisikodiagnostik

Nachweis	Handelsname (Hersteller)	Prinzip	Nachweisgrenze
4 Leitkeime	LCL® Parodontitis (Fa. LCL biokey, Aachen)	RNA-Nachweis mit DNA-Gensonde	10 ³ Keime
10 Leitkeime	ParoCheck®10 (Fa. LCL biokey, Aachen)	16S rRNA-Nachweis mit DNA-Gensonde	10 ³ Keime
20 Leitkeime	ParoCheck®20 (Fa. LCL biokey, Aachen)	16S rRNA-Nachweis mit DNA-Gensonde	10 ³ Keime
5 Leitkeime	micro-IDent® (Fa. Hain Lifescience, Nehren)	PCR + DNA-Gensonden, semiquantitativer Nachweis	10 ² Keime
11 Leitkeime	micro-IDent® plus (Fa. Hain Lifescience, Nehren)	PCR + DNA-Gensonden, semiquantitativer Nachweis	10 ² Keime
6 Leitkeime	Meridol® Paro Diagnostik (Fa. Gaba, Lörrach)	Real-Time PCR, quantitativer Nachweis	10 ² Keime
Interleukin-Genotyp	GenoType PST® (Fa. Hain Lifescience, Nehren)	PCR + DNA-Gensonden, semiquantitativer Nachweis	10 ² Keime

3.3.2 LCL® Parodontitis

Testprinzip:

Mit Hilfe des LCL® Parodontitis-Tests werden die vier Parodontitis-spezifische Leitkeime bestimmt: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*.

Aus dem Testmaterial wird die RNA-Fraktion isoliert und keimspezifische DNA-Sonden hinzugegeben. Bei einem positiven Befund kommt es zu einer Hybridisierung. Die gebundenen und markierten Gensonden können mit einem speziellen Scanner ausgewertet werden.

Probennahme:

Die Proben werden mit sterilen Papierspitzen gewonnen und in ein Transportgefäß überführt. Die Probennahme von mehreren Stellen und Verwendung eines einzigen Röhrchens führt zu einer Poolprobe, die einen Gesamtüberblick über die Parodontitis-Leitkeime des jeweiligen Patienten ermöglicht. Eine genauere Diagnose ist mittels Einzelproben möglich, beispielsweise eine Probe pro Quadrat. Für die Kostenkalkulation ist zu berücksichtigen, dass ein Transportgefäß – unabhängig von der Zahl der hierin enthaltenen Proben – eine Abrechnungseinheit darstellt.

Durchführung im Labor:

Die RNA-Fraktion des Materials wird isoliert und auf einer Trägerfolie immobilisiert. Bakterienart-spezifischen DNA-Gensonden werden zum Ansatz gegeben. Die markierten Sonden hybridisieren an komplementären Sequenzen. Falschgebundene beziehungsweise überschüssige Sonden werden in den folgenden Waschungen weggespült und nur die positiven Sonden mit einem speziellen Scanner nachgewiesen.

3.3.3 ParoCheck®

Testprinzip:

Bei dem System ParoCheck® handelt es sich um einen DNA-Sondentest, der auf dem Nachweis der keimspezifischen 16S rRNA kodierenden DNA basiert. Es werden DNA-Chips eingesetzt. Die Nachweisgrenze liegt bei 10^3 Keimen – dies entspricht bei 1 mg einer Probe, die bis zu 10^9 Bakterien enthält, der spezifischen Nachweisgrenze 1 : 10 000 000.

Der Test ist in zwei Varianten erhältlich (Tabelle 12):

Tabelle 12: Mit dem System ParoCheck® nachweisbare Parodontitiserreger

Komplex	Spezies	ParoCheck®	
		10	20
rot	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	x	x
	<i>Tannerella forsythia</i>	x	x
	<i>Treponema denticola</i>	x	x
orange	<i>Campylobacter gracilis</i>	-	x
	<i>Campylobacter rectus/showae</i>	x	x
	<i>Eubacterium nodatum</i>	-	x
	<i>Fusobacterium nucleatum ssp.</i>	x	x
	<i>Peptostreptococcus micros</i>	x	x
	<i>Prevotella intermedia</i>	x	x
	<i>Prevotella nigrescens</i>	-	x
	Streptococcus constellatus Gruppe	-	x
violett	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	-	x
	<i>Veilonella parvula</i>	-	x
grün	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans a, b, c</i>	x	x
	<i>Campylobacter concisus</i>	-	x
	<i>Capnocytophaga sp.</i>	-	x
	<i>Eikenella corrodens</i>	x	x
gelb	Streptococcus mitis Gruppe	-	x
	Streptococcus gordonii Gruppe	-	x
blau	<i>Actinomyces viscosus</i>	x	x

Probennahme:

Die Proben werden mit der Papierspitzenmethode entnommen (s. Kap. 3.1.3) und in ein Transportröhrchen überführt. Zum Nachweis der Erreger an einer spezifischen Stelle mit Risikoeinschätzung für Stützgewebe- und Knochenverlust werden Einzelproben empfohlen. Kostengünstiger, aber nur zu einer allgemeinen Risikoabschätzung geeignet ist eine Mischprobe, bei der mehrere subgingivale Proben in einem Röhrchen vereinigt werden.

Durchführung im Labor:

Im Labor wird die bakterielle DNA extrahiert und ein etwa 300 Nukleotid langes DNA-Fragment der 16S rRNA kodierenden DNA aller vorhandenen Bakterien amplifiziert. Dies führt zu einzelsträngigen DNA-Fragmenten, die mit Fluorophor markiert an komplementären Sequenzen auf dem Chip hybridisieren. Die gebundenen und markierten Sonden werden mit Hilfe spezieller Scanner detektiert. Für jede Sonde sind drei bis fünf Messpunkte vorhanden, so dass das Risiko einer Fehlmessung minimiert ist.

Eine testspezifische Software wertet die Ergebnisse aus und erstellt gleichzeitig einen Bericht mit empfehlenswerten, individuellen Therapieanschlüssen.

3.3.4 Meridol® Paro Diagnostik

Testprinzip:

Die Real-Time-PCR erlaubt eine Quantifizierung, d. h. eine Bestimmung der Gesamtkeimzahl.

Probennahme:

Die Probennahme erfolgt mit Papierspitzen wie bei den oben beschriebenen Methoden.

Wie bei den oben genannten Tests ist auch beim System Meridol® Paro Diagnostik zwischen Einzelproben und gepoolten Proben von zwei bis fünf ausgewählten Bereichen zu wählen.

Durchführung im Labor:

Zusätzlich zu den Erreger-spezifischen DNA-Primern der PCR wird als speziesspezifisches DNA-Fragment die fluoreszenzmarkierte TaqMan®-Sonde verwendet. Bei der Vervielfältigung der Zielsequenz wird die TaqMan®-Sonde von der Zielsequenz abgespalten und zerstört und hierdurch das Fluoreszenzsignal freigesetzt. Die Intensität des Signals ist proportional zur Menge des gebildeten Produkts, d. h. zu Ausgangsmenge des gesuchten Erregers.

Die zum System entwickelte Software erstellt einen Ergebnisbericht.

3.3.4.1 micro-IDent®**Testprinzip:**

Der Test micro-IDent® (Fa. Hain Lifescience, Nehren) verwendet eine Kopplung von PCR-Amplifikation und anschließender Detektion der Erreger mit spezifischen DNA-Sonden. Hierdurch ist ein semiquantitativer Nachweis möglich.

Mit Hilfe des micro-IDent® lassen sich fünf Parodontitis-Leitkeime, mit dem micro-IDent® plus elf Leitkeime bestimmen.

Tabelle 13: Leitkeime des Tests micro-IDent® und micro-IDent® plus

Spezies	micro-IDent®	micro-IDent® plus
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	X	X
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	X	X
<i>Prevotella intermedia</i>	X	X
<i>Tannerella forsythia</i>	X	X
<i>Treponema denticola</i>	X	X
<i>Peptostreptococcus micros</i>	-	X
<i>Fusobacterium nodatum</i>	-	X
<i>Campylobacter rectus</i>	-	X
<i>Eubacterium nodatum</i>	-	X
<i>Eikenella corrodens</i>	-	X
<i>Capnocytophaga</i> sp.	-	X

Probennahme:

Die Probennahme wird entsprechend dem oben Gesagten mit der Papierspitze durchgeführt.

Auf Grund der Möglichkeit eines semiquantitativen Nachweises der Parodontitiserreger eignen sich Poolproben als Screening-Verfahren, während der Einzelnachweis Auskunft über die Keimbelastung einer bestimmten Zahnfleischta-sche gibt.

Durchführung im Labor:

Nach Isolierung der bakteriellen DNA findet mittels PCR eine Amplifizierung statt. Die amplifizierte DNA wird auf die DNA-Strip®-Matrix aufgetragen, d. h. eine Matrix, die mit spezifischen DNA-Sonden beschichtet ist. Diese Fangsonden hybridisieren mit den Nukleinsäuren aus dem Analysenmaterial. Falls eine

Reaktion stattfindet, kommt es zu einer Farbreaktion auf dem DNA-Strip, deren Ausmaß mit der Menge an Proben-DNA korreliert ist, d. h. es handelt sich um eine semiquantitative Bestimmung.

Das Ergebnis wird in drei bis fünf Werktagen zugestellt.

3.3.4.2 GenoType PST®

Testprinzip:

Der Test GenoType PST® (Fa. Hain Lifescience, Nehren) dient der genetischen Risikobestimmung, da zwischen zwei Polymorphismen des Chromosoms 2 auf dem Interleukin-Gen und dem Auftreten von Parodontitiden eine enge Korrelation besteht (KORNMAN et al., 1997).

Der Nachweis dieser beiden Polymorphismen, Interleukin 1A-Gen (Position – 889) und Interleukin 1B-Gen (Position +3953) erfolgt nach dem gleichen Prinzip wie im Test micro-IDent® (s. Kap. 3.3.4.1), d. h. durch eine Kombination von PCR und DNA-Gensonden.

Probennahme:

Die Proben werden mittels Wangenabrieb entnommen (s. Kap. 3.1.4).

Durchführung im Labor:

Die Durchführung des Tests entspricht dem micro-IDent®Test.

Die Übermittlung der Ergebnisse erfolgt in drei bis fünf Werktagen.

3.4 Zuverlässigkeit der Testsysteme

3.4.1 Mikrobiologische Kariestests

3.4.1.1 Nachweis von Mutans-Streptokokken

In der folgenden Tabelle 14 werden Validität (=Sensitivität und Spezifität) und die Vorhersagewerte des Nachweises von Mutans-Streptokokken mit Hilfe von kommerziell erhältlichen Speicheltests gegenübergestellt. Wie die Tabelle zeigt, sind die Rahmenbedingungen der einzelnen Studien sehr unterschiedlich: Dies betrifft vor allem die Probandenauswahl aus Kleinkindern bis hin zu jungen Erwachsenen, die Wahl der Prüfkriterien wie DMFS/dmfs oder klinischer Kariesbefund und die Dauer des Beobachtungszeitraums beziehungsweise eine aktuelle Befunderhebung ohne Follow-up-Untersuchung.

Es zeigt sich, dass sich aus den Berechnungen der Vorhersagewerte und der Validität der Mutans-Streptokokken-Bestimmung keine eindeutige Prognose ablesen lässt. Tendenziell stimmen am ehesten die negativen Vorhersagewerte überein, d.h. dass ein negatives Testergebnis mit einer relativ hohen Wahrscheinlichkeit einhergeht, nicht an Karies zu erkranken.

Tabelle 14: Klinische Studien zur Validität und zum Vorhersagewert des mikrobiologischen Nachweises von Mutans-Streptokokken mit kommerziellen Speicheltests

Autoren	Kriterium	Beobachtungs- zeitraum	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Positiver Vorhersage- wert (%)	Negativer Vorhersage- wert (%)
SCHRÖDER und EDWARDSSON, 1987	Milchgebiss Karies ja/nein	aktuell	80	58	49	85
KINGMAN et al., 1988	DMFS >3 SM >10 ² SM >10 ⁶	17 Monate	91 5	35 98	28 38	93 75
KLOCK et al., 1989	Milchgebiss >1 Läsion	1 Jahr	16	84	31	61
ALALUUSUA et al., 1990	Bleibendes Gebiss >3% der Zahnflächen	3 Jahre	29	88	45	78
RUSSELL et al., 1991	DMFS >4,4	2 Jahre	48	68	47	48
JENTSCH et al., 1992	bleibendes Gebiss Karies ja/nein	1 Jahr	77	43	66	57
TWETMAN et al., 1994	dmfs > 0	2 Jahre	67	75	73	64
VEHKALAHTI et al., 1996	DMFS >0	28 Mon.	64	59	69	53
SPLIETH und BERNHARDT, 1999	bleibendes Gebiss Karies ja/nein	3 Jahre	50	82	29	92

Autoren	Kriterium	Beobachtungs- zeitraum	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Positiver Vorhersage- wert (%)	Negativer Vorhersage- wert (%)
TWERSKOI, 1999	DMFS >0	2 Jahre	88	25	68	53
LLENA-PUY et al., 2000	DMFT	aktuell	92	34	46	87
PIENIHAKKINEN und JOKELA, 2002	Milchgebiss Gruppe 1*	3 Jahre	72	77	49	90
	Gruppe 2*		32	98	85	83

- * Gruppe 1: low risk vs. intermediate risk + high risk
 Gruppe 2: low risk + intermediate risk vs. high risk
 high risk: klinisch Karies, intermediate risk: MS-positiv und kariesfrei, low risk: MS-negativ und kariesfrei

3.4.1.2 Nachweis von Laktobazillen

Auch für den Nachweis von Laktobazillen mit Hilfe kommerzieller Speicheltests gilt, dass eine hohe Streuung bezüglich der einzelnen prognostischen Parameter besteht (Tabelle 15). Bei den Studien, die die Nachweise sowohl von Mutans-Streptokokken als auch von Laktobazillen auswerten, fällt auf, dass die ermittelten Werte für die Validität sowie die Vorhersagewerte bezüglich der Laktobazillen jeweils ungünstiger ausfallen. Dies zeigt, dass an Hand der Laktobazillenbestimmung noch weniger als an Hand der Mutans-Streptokokken-Bestimmung das Kariesrisiko ausreichend präzise identifiziert werden kann.

Tabelle 15: Klinische Studien zur Validität und zum Vorhersagewert des mikrobiologischen Nachweises von Laktobazillen mit kommerziellen Speicheltests

Autoren	Kriterium	Beobachtungszeitraum	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Positiver Vorhersagewert (%)	Negativer Vorhersagewert (%)
SCHRÖDER und EDWARDSSON, 1987	Milchgebiss Karies ja/nein	aktuell	48	97	88	79
KINGMAN et al., 1988	DMFS >3 SM >10 ² SM >10 ⁶	17 Monate	79	50	30	90'
			15	93	37	80
KLOCK et al., 1989	Milchgebiss >1 Läsion	1 Jahr	19	90	46	70
ALALUUSUA et al., 1990	Bleibendes Gebiss >3% der Zahnflächen	3 Jahre	55	68	37	82
RUSSELL et al., 1991	DMFS >4,4	2 Jahre	40	83	58	70
JENTSCH et al., 1992	bleibendes Gebiss Karies ja/nein	1 Jahr	67	33	59	42
VEHKALAHTI et al., 1996	DMFS >0	28 Mon.	82	63	76	71
TWERSKOI, 1999	DMFS >0	2 Jahre	95	14	67	60
LLENA-PUY et al., 2000	DMFT	aktuell	69	73	62	78

3.4.1.3 Ergebnisse von Kombinationen

Einige Studien werteten die Ergebnisse von Kombinationen verschiedener Speicheltests aus.

Beispielsweise betrug die Sensitivität einer Kombination aus Dentocult® SM und Dentobuff® für das Drei-Jahres-Kariesinkrement eines DMFS >8 63% und die entsprechende Spezifität 78% (WILSON und ASHLEY, 1989).

Eine Kombination aus Dentocult® LB und Dentobuff® lieferte in einer Untersuchung über 44 Wochen an 102 Erwachsenen für einen Zuwachs an Karies an mehr als 3, 6 oder 9 Flächen positive Vorhersagewerte von 90%, 53% und 16%, negative Vorhersagewerte von 19%, 47% und 71% (SCHMALZ und JOISTEN, 1990).

Die gleichzeitige Anwendung von Dentocult® SM und Dentocult® LB erbrachte für die Sensitivität 59%, die Spezifität 89%, den positiven Vorhersagewert 89% und den negativen Vorhersagewert 60% (VEHKALAHTI et al., 1996).

Wurden die drei Tests Dentocult SM®, Dentocult LB® und Dentobuff® parallel durchgeführt, ergab sich eine Sensitivität von 64% und eine Spezifität von 55% (TWERSKOI, 1999).

3.4.1.4 Nachweis der Milchsäureproduktion

Das Verfahren, die bakterielle Stoffwechselaktivität mittels Milchsäureindikatoren zu bestimmen, ist vergleichsweise neu.

An einem ersten Feldversuch nahmen 173 Zahnärzte teil, die insgesamt 3.315 Patienten mit dem Clinpro®Cario L-Pop untersuchten. Nach Auswertung der Teststäbchen wiesen ca. 30 % der untersuchten Patienten ein hohes Kariesrisikopotenzial auf, wobei das Risiko bei jüngeren und älteren Patienten höher zu

sein schien als bei Patienten der mittleren Altersklasse. Die Ergebnisse belegten die Tatsache, dass etwa 20% der Bevölkerung ca. 80% neu aufgetretener Kariesläsionen aufweisen. Außerdem wurde die pathogene Aktivität von Kariesbakterien in Form der Milchsäurewirkung dokumentiert, bevor kariöse Läsionen entstanden waren (ERNST und WILLERSHAUSEN, 2005).

Zur Reproduzierbarkeit des Tests wurden verschiedene Versuchsreihen mit folgenden kurz zusammengefassten Ergebnissen durchgeführt (HAEBERLEIN et al., 2003):

Tabelle 16: Reproduzierbarkeit des Clinpro®Cario L-Pop-Tests unter verschiedenen Bedingungen (HAEBERLEIN et al., 2003)

Patientenzahl	Durchführung	Reproduzierbarkeit
10	Fünfmal unmittelbar hintereinander	100%
20	Morgens und nachmittags an drei verschiedenen Tagen innerhalb einer Woche	88%
23	Einmal täglich über zwei Wochen	91%
21	An drei verschiedenen Werktagen über vier Wochen	76%

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse des Clinpro®Cario L-Pop wurde außerdem in einer Gruppe gesunder Probanden (n=31) getestet, bei denen der Test jeweils zehnmal in zwei Wochen angewendet wurde. Bei 20 Probanden, die während der Untersuchungsphase ihre Mundhygiene nicht änderten, betrug die Reproduzierbarkeit 80%, wobei eine besonders gute Übereinstimmung bei Personen mit niedrigen Laktatkonzentrationen bestand. Bei 11 Probanden, bei denen auf Grund von Erkältungskrankheiten oder Medikamenteneinnahme die oralen Bedingungen im Verlauf variierten, betrug die Reproduzierbarkeit nur 60% (SCHIFFNER und TORRES-QUINTERO, 2005). Die Ergebnisse zeigen,

dass der Clinpro®Cario L-Pop-Test bei stabilen oralen Bedingungen gut reproduzierbar ist.

3.4.2 Gentechnische Tests

3.4.2.1 Karies

Derzeit bietet ein Hersteller (Fa. LCL biokey, Aachen), die Möglichkeit an, Mutans-Streptokokken mit Hilfe einer DNA-Gensonde zu bestimmen. Da die Gensonde spezifisch gegen Mutans-Streptokokken gerichtet ist, besteht naturgemäß eine große Fähigkeit dieses Tests, ein hohes Risiko korrekt zu erkennen. Als Nachweisgrenze werden 10^2 bis 10^3 Keime/Probe angegeben.

Fällt dieser Test negativ aus, wird in einem zweiten Schritt eine PCR zum Nachweis des Gens der Glykosyltransferase eingesetzt, deren Nachweisgrenze bei 10^3 Keimen/Probe liegt.

3.4.2.2 Parodontitis

Alle kommerziell verfügbaren Tests zum Nachweis von Parodontitis-Leitkeimen sowie zur Bestimmung eines genetisch bedingten Erkrankungsrisikos beruhen auf spezifischen gentechnischen Verfahren. Die Nachweisgrenze hängt jeweils von der Art der gewählten Methode ab. Sie beträgt bei der Verwendung von DNA-Gensonden 10^3 Keime pro Probe und bei der Polymerase-Kettenreaktion 10^2 Keime pro Probe (vgl. Tabelle 11, Seite 50).

4 Diskussion

Bei den beiden zahnmedizinisch relevanten Haupterkrankungen, Karies und Parodontopathien, handelt es sich um opportunistische Infektionen (CAUFIELD et al., 1993), bei denen bakterielle Ursachen eine bedeutende Rolle spielen. Da erstens die Erreger allerdings größtenteils auch in der physiologischen Mundflora vorkommen und zweitens zahlreiche weitere Faktoren die Entstehung und das Fortschreiten der jeweiligen Erkrankung beeinflussen, ist der alleinige Nachweis potentiell pathogener Keime in der Regel nicht ausreichend, um eine sichere Risikoabschätzung zu ermöglichen (STAMM et al., 1991; TINANOFF, 1995). Dennoch stellt die Bestimmung der Erregerbelastung für den Zahnarzt ein probates Mittel dar, um dem Patienten das Ausmaß seiner Gefährdung zu verdeutlichen und ihn zur Mitarbeit bei prophylaktischen Maßnahmen zu motivieren, und weiterhin um ihm selbst die Therapieentscheidung und die Planung von Vorbeugung und Verlaufskontrollen zu erleichtern

Daher wurden zahlreiche kommerzielle Tests entwickelt, mit deren Hilfe – im Idealfall nicht invasiv, schnell, unkompliziert und kostengünstig – das Karies- und Parodontitis-Risiko an Hand relevanter Parameter ermittelt werden kann.

4.1 Kariesrisikodiagnostik

Im Fall der Karieserkrankung haben sich folgende labortechnisch zu ermittelnde Parameter bewährt: die Bestimmung der Mutans-Streptokokken, der Laktobazillen, der Pufferkapazität des Speichels und in neuester Zeit die Ermittlung der Milchsäureaktivität kariogener Bakterien.

4.1.1 Nachweis von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen mit selektiven Kulturmedien

Die heute gebräuchlichen kommerziellen Tests zum Nachweis von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen basieren auf selektiven Kulturmedien, die die Nachweisgrenzen für beide Keimgruppen deutlich herabsetzen und die orale Begleitflora nahezu unterdrücken, so dass ein Mutans-Streptokokken- und Laktobazillennachweis durch makroskopische Befundung der Kulturträger zweifelsfrei möglich ist (KNEIST und HEINRICH-WELTZIEN, 2001). Es sind derzeit vier nach diesem Prinzip arbeitende Tests in Deutschland im Handel: Der Dentocult® SM (Fa. Orion diagnostica, Espoo/Finnland) wurde als erster Test für den routinemäßigen Einsatz in der Zahnarztpraxis entwickelt (JENSEN und BRATTHALL, 1989) und bestimmt mittels Spatel-Methode entweder in einer Einzelprobe (Dentocult® SM Strip mutans) die Gesamtbelastung der Mundhöhle mit Mutans-Streptokokken oder in einem Parallelansatz von vier Proben auf einem Spatel (Dentocult® SM Site Strips) gezielt den Keimgehalt ausgewählter Bereiche. Als erster Test zur „chair-side“-Bestimmung von Laktobazillen mittels Dip slide-Methode (LARMAS, 1975) ist auch der Dentocult® LB (Fa. Orion diagnostica, Espoo/Finnland) heute noch gebräuchlich. Zwei etwas moderne Dip slide-Tests analysieren gleichzeitig den Gehalt an Mutans-Streptokokken und Laktobazillen mit Hilfe doppelseitig beschichteter Testträger. Es handelt sich um die Tests CRT® bacteria (Fa. Ivoclar Vivadent, Ellwangen) und Cario-Check® (Fa. Hain Lifescience, Nehren). Bei den letztgenannten Tests konnte die Anzüchtungszeit für Laktobazillen durch Modifikationen des Trägermediums von ursprünglich vier Tagen, die beim Dentocult® LB erforderlich sind, auf zwei Tage gesenkt werden. Dies ist besonders von Vorteil, um beide Seiten des Tests gleichzeitig ablesen zu können.

Auch wenn die genannten Tests leicht durchzuführen und durch die vom Hersteller jeweils mitgelieferten Beurteilungsschemata in der Regel unproblematisch auszuwerten sind, treten gelegentlich beim Ablesen der Dip-slide-Tests Begleitphänomene auf, die das Ergebnis verfälschen. Beispielsweise werden

Trübungen der Kulturbouillon durch Nicht-Mutans-Streptokokken hervorgerufen. Da nur Mutans-Streptokokken auf dem Nachweismedium wachsen, sind die Trübungen aber ohne Einfluss auf das Ergebnis (KNEIST, 1998). In seltenen Fällen fallen große Kolonien während der Anzuchtperiode vom Spatel herunter. Da dies in der Regel nur bei sehr hohen Keimzahlen vorkommt, bleibt das Gesamtergebnis unbeeinflusst. Lediglich bei einem geringen Wachstum der niedrigsten Keimzahlkategorie sollte das Ergebnis auf die nächsthöhere Kategorie korrigiert werden. Das Gleiche gilt für eine Adhärenz großer Kolonien an der Wand des Kulturröhrchens, die bei etwa 30% der Proben mit hohen Keimzahlen vorkommen (KNEIST, 1998). Man sollte allerdings für Verlaufskontrollen heruntergefallene und anhaftende Kolonien dokumentieren, damit auch geringe Senkungen der Keimzahlen auffallen.

Im Vergleich mit klassischen Kulturverfahren erreichten die kommerziellen Testbestecke eine ausreichende Genauigkeit von 82-93%. Die Spezifität war bei Mutans Streptokokken im Einzeltest auf Site Strips allerdings mit 93% etwas höher als in der Gesamtprobe (KARJALAINEN et al., 2004).

Übereinstimmend wird in den genannten Studien zu den kommerziell erhältlichen Bakterientests ein recht hoher negativer Vorhersagewert erreicht, d. h. dass die Tests eher in der Lage sind, Personen mit einem geringen Kariesrisiko zu identifizieren. Bei Personen mit beispielsweise einem hohen S. mutans-Gehalt im Speichel kann dennoch eine Kariesentwicklung ausbleiben, wie sogar für sogenannte „Mutansmillionäre“ nachgewiesen wurde (KLIMM, 1997). Die Gefahr falsch negativer Tests ist allerdings relativ hoch, d. h. dass Patienten fälschlicherweise in Sicherheit gewiegt werden (SELLMANN, 2003). Einmalig erhobene Speicheltests sind mit einem hohen Zufallsrisiko behaftet. Mit einer Wiederholung des Speicheltests steigt die Sicherheit der Aussage (REICH und BÖSSMANN, 1994).

4.1.2 Pufferkapazität des Speichels

Ein anderer Parameter zur Einschätzung des Kariesrisikos ist die Pufferkapazität des Speichels, die nicht der Ermittlung von Kariesverursachern sondern eher der Beurteilung der körpereigenen Abwehrmechanismen gegenüber potentiellen Erregern dient. Die Pufferkapazität kann mit Hilfe der kommerziellen Tests Dentobuff® (Fa. Orion Diagnostica, Espoo/Finnland), Buffcheck® (Fa. Hain Lifescience, Nehren) und CRT® buffer (Fa. Ivovlar Vivadent, Ellwangen) „chair- side“ bestimmt werden. ZIMMER betont, dass sie möglicherweise bei der Kariesrisikodiagnostik keine Rolle spielt, da im Normalfall nur wenig Speichel – etwa 0,7 ml - im Mund vorhanden ist und dieser, besonders bei dichten Plaquebelägen, nicht in ausreichendem Umfang an die Zahnoberfläche diffundieren kann (ZIMMER et al., 1995). Ein großer Einfluss des Speichels auf die Kariesaktivität wird erst bei extremer Mundtrockenheit erkennbar, wie sie nach Strahlentherapie oder der regelmäßiger Einnahme bestimmter Medikamente auftritt (ROTHWELL, 1987; PARVINEN et al., 1994). Die mit den kommerziellen Tests ermittelte Pufferkapazität ist zwar inter- und intradividuell relativ konstant (BOSE et al., 1992), für die alleinige Risikobeurteilung jedoch ungeeignet (JENTSCH et al., 1992; SHI et al., 2003).

4.1.3 Kombinationen verschiedener Speicheltests

Keiner der oben angesprochen Tests vermag für sich allein genommen eine klinisch akzeptable Genauigkeit von 80% zu erreichen (CROSSNER, 1981; ALALUUSUA et al., 1990; RUSSELL et al., 1991; HOLBROOK et al., 1993; ADA, 1995; EINWAG, 1997). Dies gilt sowohl für die Beurteilung der Sensitivität (d.h. ein hohes Risiko wird korrekt prognostiziert) als auch für die Spezifität (d.h. ein niedriges Risiko wird korrekt prognostiziert) (STUART und STAMM, 1991; ADA, 1995; MOSS und ZERO, 1995; REICH, 1995).

Daher wurde versucht, durch Kombination verschiedener Tests die Sensitivität und Spezifität zu erhöhen. Zwar gelang dies beispielsweise durch die parallele Anwendung von Dentocult® SM + Dentobuff® (WILSON und ASHLEY, 1989), Dentocult® LB + Dentobuff® (SCHMALZ und JOISTEN, 1990), Dentocult® SM + Dentocult® LB (VEHKALAHTI et al., 1996) sowie Dentocult SM® + Dentocult LB® + Dentobuff® (TWERSKOI, 1999), jedoch wurde das Ziel einer 80%igen Genauigkeit in keinem Fall erreicht.

4.1.4 Kombinationen von Speicheltests mit klinischen Parametern

Dies gilt auch für die Ergänzung mit klinischen Parametern wie dem DMFT, Mundhygieneparametern oder demographischen Daten (ALALUUSUA et al., 1990; SCHMALZ und JOISTEN, 1990; AXELSSON, 1992; DEMERS et al., 1992; LEVERETT et al., 1993; SCHRÖDER et al., 1994; TWETMAN et al., 1994; ZIMMER et al., 1995; VEHKALAHTI et al., 1996). Dennoch ist der Einsatz von Speicheltests in Zusammenhang mit der Erhebung weiterer Risikofaktoren zu befürworten, da auf preisgünstige, den Patienten wenig belastende Art und Weise, eine eventuell bestehende Kariesgefährdung für den Patienten erkennbar gemacht werden kann. Hier ist beispielsweise das Programm Cariogram zu nennen. Mit dessen Hilfe wird am Bildschirm der Zusammenhang zwischen Risikofaktoren und Kariesentstehung verdeutlicht. Durch Verändern einzelner Parameter kann visualisiert werden, wie sich das Kariesrisiko beispielsweise durch eine Verbesserung der Mundhygiene reduzieren lässt. Hierdurch kann die Motivation des Patienten deutlich gefördert werden (HÄNSEL PETERSSON und BRATTHALL, 2000; HÄNSEL PETERSSON et al., 2003; BRATTHALL und HÄNSEL PETERSSON, 2005).

4.1.5 Bestimmung der Milchsäureaktivität

Aktuell wird die Bestimmung der Milchsäureaktivität als Indikator für eine kariogene Belastung propagiert, da das Kariesrisiko proportionel mit der von den Bakterien produzierten Säuremenge ansteigt (MARGOLIS et al., 1993b; BERGSTRÖM et al., 2000; VAN RUYVEN et al., 2000). Hier ist der Test Clinpro®Cario L-Pop (Fa. 3M Espe, Seefeld) zu nennen. Das Testsystem erwies sich bei einem Feldversuch, an dem 173 Praxen und 3315 Patienten beteiligt waren, gemäß den Angaben der teilnehmenden Zahnärzte in der Anwendung als praxistauglich, was durch die häufige Nennung der Wertungen „einfache Anwendung“, „einfache Aktivierung“, „geringer Zeitaufwand“ und „Möglichkeit zur Patientenmotivation“ dokumentiert wurde. 86 % der an dem Feldversuch beteiligten Zahnärzte gaben an, den Kariesrisikotest in Zukunft verwenden zu wollen, 35 % davon sogar regelmäßig (ERNST und WILLERSHAUSEN, 2005). In einer Pilotstudie konnte allerdings keine Korrelation zwischen DMFS und den Ergebnissen des Clinpro®Cario L-Pop-TESTS gefunden werden (BIZHANG et al., 2004), so dass auch dieser Test nicht zur ausschließlichen Kariesrisikodiagnostik empfohlen werden kann.

4.1.6 Differenzierung von kariogenen Bakterien mittels Gensonden

Mit dem Aufkommen gentechnischer Methoden wurde auch ein Test entwickelt, der das Vorkommen von Mutans-Streptokokken mit Hilfe von Gensonden nachweist (LCL® Kariestest, Fa. LCL biokey, Aachen). Auf Grund der spezifischen Gensonden besitzen solche Test naturgemäß eine sehr große Fähigkeit, hohe Risiken korrekt zu erkennen. Allerdings kann bei negativem Testergebnis nicht zwingend auf ein geringes Risiko geschlossen werden, besonders wenn die Proben von nur wenigen Bereichen entnommen wurden. Daher schließt der LCL® Kariestest bei negativem Testergebnis in einem zweiten Schritt eine PCR an, die gegen das Glykosyltransferase-Gen gerichtet ist. Wenn dieses in nur geringen Mengen gebildet wird, kann auch von einem geringen Kariesrisiko

ausgegangen werden (DEVULAPALLE et al., 2004). Eine zusätzliche Verbesserung der Testgenauigkeit ist dadurch gewährleistet, dass die Proben für den gentechnischen Test nicht aus dem Speichel, sondern direkt per Papierspitze oder Kürette von der Zahnoberfläche als eigentlichem Lebensraum der Bakterien entnommen werden. Der großen Testgenauigkeit stehen allerdings vergleichsweise hohe Kosten gegenüber. Während die klassischen Testbestecke zum Nachweis von Bakterien und auch der Pufferkapazität für Materialkosten ab etwa 3,50 Euro/Test erhältlich sind, kostet ein gentechnischer Nachweis von Mutans-Streptokokken derzeit etwa 34 Euro.

Allen genannten Karies-Risiko-Tests ist gemeinsam, dass sie nicht allein für eine Prognose zukünftiger Karieserkrankungen geeignet sind. Unter bestimmten Bedingungen können sie allerdings empfohlen werden: zur Erstbefundung mit Bestimmung des Kariespotenzials, zum Screening des Kariesprozesses, zur Erfolgskontrolle eingeleiteter Maßnahmen, als Entscheidungshilfe bei der Auswahl restaurativer Maßnahmen und zur Patientenmotivation und -bindung.

4.2 Parodontitisrisikodiagnostik

4.2.1 Verwendung gentechnischer Verfahren

Auch die Parodontitisrisikodiagnostik richtet sich darauf, die verantwortlichen Bakterienarten zu identifizieren, zum Einen für die Wahl einer geeigneten antibiotischen Therapie, zum Anderen zur Verlaufskontrolle eines gewählten Behandlungsweges (SLOTS und JORGENSEN, 2002; RÖTGER, 2003; BEIKLER et al., 2004). Anders als bei der Karieserkrankung werden zahlreiche Leitkeime mit unterschiedlichen Wachstumsansprüchen für die Parodontitiserstehung verantwortlich gemacht, so dass sich der Nachweis einzelner Arten mit Hilfe kommerzieller Testkits nicht realisieren lässt. Der erforderliche personelle, zeitliche und finanzielle Aufwand einer vollständigen Analyse mit klassischen mik-

robiologischen Verfahren, d. h. der Anzucht und anschließenden Differenzierung der Bakterien, ist für die Routinediagnostik von Parodontitiden meist nicht vertretbar (BEIKLER und KARCH, 2005).

Seit Einführung der gentechnischen Verfahren bietet sich auch auf dem Gebiet der Parodontologie die Chance, in einem Versuchsdurchgang mehrere Erreger gleichzeitig nachweisen zu können. Die molekularbiologischen Tests haben hohe Vorhersagewerte und können potenzielle Virulenz- und Resistenzgene bei parodontopathogenen Bakterien und hierdurch die Spezies identifizieren. Jedoch werden nur die Keime nachgewiesen, auf welche die Analyse gerichtet ist (BEIKLER und KARCH, 2005).

Zwei Methoden werden aktuell angeboten: Der Nachweis mittels Gensonden oder im Rahmen einer Polymerasekettenreaktion. Beide Verfahren können derzeit noch nicht „chair-side“ durchgeführt werden. Die Probennahme erfolgt in der zahnärztlichen Praxis mit Hilfe vom jeweiligen Labor angelieferter Testkits. Die Proben werden dann an das Labor gesandt und dort die entsprechenden Untersuchungen durchgeführt und ausgewertet, wobei mit der Mitteilung der Ergebnisse drei bis sieben Tage nach Probennahme auch Therapieempfehlungen und Risikobeurteilungen erfolgen.

Die erforderlichen Proben sind schnell und einfach in der täglichen Praxis zu gewinnen (ZAMBON und HARASZTHY, 1995; JERVOE-STORM et al., 2000). Die Probennahme von stark blutenden oder eiternden Stellen sollte aber vermieden werden, da durch einen hohen Blut-/Eitergehalt der Anteil an humaner DNA so hoch ist, dass es zu einer Verdünnung des bakteriellen Anteils kommt. Durch die Fülle der in der Plaque vorkommenden Mikroorganismen, können mit einer Probe nur 7-41% aller vorhandenen Keime erfasst werden (KIEL und LANG, 1983). Im Einzelnen wurde *Actinobacillus actinomycetemcomitans* nur bei 11,4% aller Patienten mit einer adulten Parodontitis nachgewiesen. Parodontien mit positivem Testergebnis für *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* und *Tannerella forsythia* lagen zwischen 44% und 54%

(CHRISTERSSON et al., 1992). Je mehr Proben pro Patient gesammelt werden, um so repräsentativer ist das Ergebnis für die pathogene intraorale Mikroflora (LOOMER, 2004). Bei der Probennahme an vier Bereichen erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, eine bestimmte gesuchte Spezies nachzuweisen auf 75% (CHRISTERSSON et al., 1992; HAFFAJEE und SOCRANSKY, 1992).

Neben einer zu geringen Probenanzahl können falsch negative Testergebnisse bei vorausgegangener Antibiotikatherapie oder auch unmittelbar vorher vorgenommener mechanischer Parodontalbehandlung vorkommen. Denkbar ist auch eine fehlerhafte Probennahme durch Benetzen der Papierspitze mit Speichel-mucinen und aeroben Keimen, zu kurzer Verweildauer in der Zahnfleischtasche oder nicht bis in den Taschenfundus vorgeschobener Papierspitze (OMAR et al., 1990; FLEMMIG et al., 1998; JERVOE-STORM et al., 2000). Generell wird es bei der Entnahme subgingivaler Plaque mit der Papierspitzenmethode als problematisch angesehen, dass keine gezielte Entnahme von Probenmaterial vom Boden der Zahnfleischtaschen möglich ist. Auf dem Weg vom Fundus zum Taschenboden wird die Spitze bereits mit Mikroorganismen vom koronalen und mittleren Abschnitt kontaminiert (TANNER und GOODSON, 1986).

Derzeit werden Tests zur Identifizierung von vier bis 20 Parodontitis-Leitkeimen mittels RNA-Nachweis beziehungsweise 16SrRNA-Nachweis mit DNA-Gensonden angeboten (LCL® Parodontitis, ParoCheck®10 und ParoCheck®20 (alle Fa. LCL, biokey Aachen), weiterhin ein kombinierter PCR- und Gensondentest für 5 beziehungsweise 11 Leitkeime (micro-IDent® und micro-IDent® plus, Fa. Hain Lifescience, Nehren), der einen semiquantitativen Nachweis erlaubt. Schließlich ist ein quantitativer Nachweis von sechs Leitkeimen mittels Real-Time PCR möglich (Meridol® Paro Diagnostik, Fa. Gaba, Lörrach). Es ist allerdings zur Zeit noch nicht möglich, eine Antibiotika-Resistenz mit den genannten Tests festzustellen (ZAMBON und HARASZTHY, 1995; JERVOE-STORM et al., 2000).

Gemeinsamer Vorteil all dieser Tests ist es, dass auch der Nachweis nicht lebender Keime möglich ist. Dies ist im Fall der Parodontitis von besonderer Bedeutung, da die Erreger hauptsächlich anaerob leben und daher häufig bereits während der Probennahme absterben PASTER et al., 2001; BEIKLER und KARCH, 2005. Die Unterschiede zwischen den Tests betreffen neben der Auswahl der Leitkeime die Testgenauigkeit. Bei den Gensondentests findet keine Vermehrung des genetischen Materials statt, d. h. dass sie eine geringere Sensitivität als PCR-Tests aufweisen, die aber immer noch diejenige von konventionellen Kulturverfahren bei Weitem übersteigt (RASSHOFER, 1999).

Die Nachweisgrenze liegt bei den Gensonden-Tests bei etwa 10^3 Keimen/Probe, bei den PCR-Tests bei etwa 10^2 Keimen/Probe. In praxi bedeutet dies, dass beispielsweise fünf Bakterienzellen in einer Plaqueprobe mit Hilfe der PCR noch ein positives Signal auslösen. Damit stellt sie die sensitivste Methode zum mikrobiologischen Nachweis von Krankheitserregern in der Plaque dar (RASSHOFER, 1999). Hier stellt sich die Frage, ob eine solch niedrige Nachweisgrenze noch von klinischer Relevanz ist, zumal die Erreger ja überwiegend Bestandteil der physiologischen Mikroflora der Mundhöhle sind. Hilfreich kann die hohe Sensitivität aber beim Studium der Erstbesiedlung der Mundhöhle sein (CONRADS et al., 1996; CONRADS et al., 1999). Sinnvoll ist in der Zahnarztpraxis besonders ein quantitativer Nachweis der Bakterien, wobei ein erhöhtes Risiko für einen Attachmentverlust bei Parodontitis ab einer Überschreitung von 10^4 bis 10^5 Keimen besteht (SOCRANSKY und HAFFAJEE, 1992). Für den quantitativen Nachweis bietet sich die Realtime-PCR an und in eingeschränktem Maße auch die semiquantitativen Verfahren, während die DNA-Sonden nur zusammen mit klinischen Befunden aussagekräftig sind. Durch die Realtime-PCR ergibt sich die Möglichkeit, bei Patienten mit profunder Parodontitis marginalis nach erfolgter systematischer Therapie eine Verlaufskontrolle vorzunehmen. Auch wird die Früherkennung von Rezidiven erleichtert und eine Analyse des Keimspektrums vor umfangreichen chirurgischen Eingriffen ermöglicht (JERVOE-STORM et al., 2000). Es müssen allerdings die vergleichsweise hohen Kosten berücksichtigt

dings die vergleichsweise hohen Kosten berücksichtigt werden. Für die neueren Verfahren zur Diagnostik und Therapie von Parodontopathien besteht noch keine explizite Abrechnungsgrundlage nach der zahnärztlichen Gebührenordnung, so dass die Probennahme und Begleitleistungen wie Beratung, Therapiegespräche, Zahnreinigung usw. separat an Hand der vorhandenen Leistungsbeschreibungen abgerechnet werden können. Die labortechnischen Arbeiten werden direkt oder via zahnärztlicher Praxis zwischen Labor/Patient in Rechnung gestellt. Beispielsweise entstehen dem Patienten bei der Realtime-PCR-Bestimmung aus der empfohlenen Anzahl von vier Probenröhrchen Kosten in Höhe ab 165 Euro, während der einfache Gensondentest zur Bestimmung von vier Leitkeimen aus einer Poolprobe bereits ab 28 Euro erhältlich ist.

Insgesamt haben sich die zu Beginn der 1990er Jahre gehegten Erwartungen bezüglich einer genauen differentialdiagnostischen oder therapielevanten Aussage zur Parodontitisdiagnose und –prognose bisher leider in nur geringem Ausmaß erfüllt (WALTER et al., 2005). Daher können mikrobiologische Nachweisverfahren in der Parodontologie nicht generell für die Feststellung oder Diagnose einer parodontalen Erkrankung empfohlen werden (MOMBELLI et al., 2002; ARMITAGE, 2003; SBORDONE und BORTOLAIA, 2003). Der Nachweis von Parodontalerregern ist nicht bei jeder Parodontitis erforderlich. Jedoch kann sie bei progredientem Verlauf dazu beitragen, die Diagnose abzusichern, die Prognose einzuschätzen und die Behandlung gezielter planen zu können (LISTGARTEN, 1994; SOCRANSKY und HAFFAJEE, 2002).

Nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Parodontologie (DGP), der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten (DGZMK) und der American Academy of Parodontology (AAP) ist eine mikrobiologische Diagnostik indiziert, wenn eine Indikation zur systemischen adjuvanten Antibiotikatherapie gegeben ist: aggressive Parodontitis (AAP, 2000a), schwere chronische Parodontitis (BEIKLER und KARCH, 2005), Parodontitiden,

die trotz vorangegangener Therapie progrediente Attachmentverluste aufweisen (AAP, 2001), mittelschwere bis schwere Parodontitiden bei systemischen Erkrankungen oder Zuständen, die die Funktion des Immunsystems beeinträchtigen (AAP, 2000b).

4.2.2 Bestimmung der Parodontitisprognose mit Hilfe der Gentechnologie

Abschließend sei der Nachweis des Interleukin-1-Gens (GenoType® PST, Fa. Hain Lifescience, Nehren) zu nennen. Es handelt sich um das einzige Verfahren, das von keinerlei diagnostischer Bedeutung, sondern nur von prognostischem Wert ist. Personen mit einem positiven IL-1-Genotyp-Testergebnis haben ein erheblich größeres Risiko für eine Entwicklung aggressiver Parodontitiden mit ausgedehntem Knochenabbau. Ein solcher Test kann in Verbindung mit klinischen Daten nützlich sein, um eine Reaktion auf die Erkrankung oder die Therapie besser einschätzen zu können (KORNMAN et al., 1997). Auch empfiehlt sich der Test für Familienmitglieder IL-1-positiver Patienten, um Prophylaxe- und Recall-Intervalle effizient planen zu können.

5 Zusammenfassung

Derzeit findet in der Zahnmedizin ein Paradigmenwechsel von der Therapiebereits eingetretener Schäden durch Karies und Parodontitis zur Vermeidung aufwendiger Behandlungen mit Hilfe der Risikoabschätzung und Prophylaxe statt. Daher wurden zahlreiche kommerzielle Tests entwickelt, die entweder als „chair-side“-Diagnostik oder im Labor durch den Nachweis potentiell pathogener Erreger oder anderer krankheitsrelevanter Parameter wie Pufferkapazität des Speichels oder Milchsäureaktivität der Bakterien sowohl Prognose als auch Therapieentscheidung erleichtern sollen.

Für die Kariesrisikoabschätzung existieren in der zahnärztlichen Praxis durchzuführende Spatel- oder Dip-slide-Tests zum Nachweis von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen sowie zur Ermittlung der Pufferkapazität des Speichels. Keiner dieser Tests erfüllt – weder allein noch in Kombination - das Kriterium einer 80%igen Genauigkeit. Besonders die Erkennung eines geringen Kariesrisikos ist problematisch. Dies gilt auch für die neuere Methode des Nachweises der Milchsäureaktivität von Bakterien. Kein Test eignet sich allein für eine Kariesprognose. Die mikrobiologischen Tests können aber zusammen mit der Beurteilung weiterer klinischer Risikofaktoren (Ernährung, Hygiene, aktueller Kariesbefund etc.), dazu genutzt werden, dem Patienten seine aktuelle Kariesgefährdung und die positiven Auswirkungen einer Risikominimierung zu verdeutlichen, um hierdurch die Compliance zu erhöhen. Empfohlen werden kann auch ein moderner Gensondentest zum Nachweis von Mutans-Streptokokken und Laktobazillen, dem sich bei negativem Ergebnis zur Diagnosesicherung eine PCR-(Polymerase-Kettenreaktion)-Auswertung anschließt.

Moderne molekularbiologische Tests, die in hierauf spezialisierten Labors durchgeführt werden, weisen Karies- und Parodontitiserreger mittels Gensonden oder PCR nach, wobei lediglich mit der PCR-Methode ein quantitativer Nachweis möglich ist. Alle Tests zeichnen sich durch eine sehr hohe Nach-

weisgenauigkeit aus. Da die Parodontitis-Leitkeime Bestandteile der physiologischen Mundflora sind, ist ein quantitativer Nachweis sinnvoll, wie ihn die Real-time-PCR bietet. Empfohlen wird der Einsatz molekularbiologischer Verfahren bei solchen Parodontitiden, bei denen eine Indikation zur systemisch- adjuvanten Antibiotikatherapie besteht.

Ein weiterer molekularbiologischer Test, der Nachweis des Interleukin-1-Gens, hat zwar keinen diagnostischen Wert, aber eine prognostische Bedeutung, da Patienten mit einem positiven Ergebnis ein deutlich höheres Risiko für das Entstehen einer Parodontitis mit Attachmentverlust aufweisen.

6. Literaturverzeichnis

1. AAP (2000a). Parameter on aggressive periodontitis. American Academy of Periodontology (AAP). *J Periodontol* 71, 867-869.
2. AAP (2000b). Parameter on periodontitis associated with systemic conditions. American Academy of Periodontology (AAP). *J Periodontol* 71, 876-879.
3. AAP (2001). Treatment of plaque-induced gingivitis, chronic periodontitis, and other clinical conditions. American Academy of Periodontology (AAP). *J Periodontol* 72, 1790-1800.
4. ABERNATHY, J. R., GRAVES, R. C., BOHANNAN, H. M., STAMM, J. W., GREENBERG, B. G., DISNEY, J. A. (1987). Development and application of a prediction model for dental caries. *Comm Dent Oral Health Epidemiol* 15, 24.28.
5. ADA (1995). Caries diagnosis and risk assessment. A review of preventive strategies and management. American Dental Association. *J Am Dent Assoc* 126, 7-15.
6. ADAIR, P. M., LEVERETT, D. H., SHAFFER, C. L. (1994). Interexaminer agreement of dip slide tests for salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Caries Res* 28, 123-126.
7. AGARWAL, S., CHANDRA, C. S., PIESCO, N. P., LANGKAMP, H. H., BOWEN, L., BARAN, C. (1998). Regulation of periodontal ligament cell functions by interleukin-1 beta. *Infect Immun* 66, 932-937.
8. ALALUUSUA, S. (1991). Transmission of mutans streptococci. *Proc Finn Dent Soc* 87, 443-447.
9. ALALUUSUA, S., KLEEMOLA-KUJALA, E., GRÖNROOS, L., EVÄLAHTI, M. (1990). Salivary caries-related tests as predictors of future caries increment in teenagers. A three-year longitudinal study. *Oral Microbiol Immunol* 5, 77-81.
10. ALBANDAR, J. M., OLSEN, I., GJERMO, P. (1990). Associations between 6 DNA probe-detected periodontal bacteria and alveolar bone loss and other clinical signs of periodontitis. *Acta Odontol Scand* 48, 415-423.

11. ARMITAGE, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal disease and conditions. *Ann Periodontol* 4, 1-6.
12. ARMITAGE, G. C. (2003). Diagnosis of periodontal disease. *J Periodontol* 74, 1237-1247.
13. 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. *Orals Microbiol Immunol* 11, 266-273.
14. AXELSSON, P. (1992): Eine 4-Punkte-Einteilung zur Identifizierung von Kariesrisikopatienten auf der Basis von S. mutans-Speichelwerten und dem Plaque Formation Rate Index (PRFI). In: LÖST, C., BRATTHALL, D., SCHLAGENHAUF, U. (Hrsg.): Konsensus-symposium Tübingen 1991: Nutzenorientierte Prävention mittels Risikodiagnostik.; S. 31-37. Berlin: Quintessenz.
15. BECK, J. D., KOHOUT, F., HUNT, R. J. (1988). Identification of high caries risk adults: Attitudes, social factors and diseases. *Int Dent J* 38, 231-238.
16. BECK, J. D., WEINTRAUB, J. A., DISNEY, J. A. (1992). University of North Carolina Caries Risk Assessment Study: Comparisons of high risk prediction, any risk prediction, and any risk etiology models. *Comm Dent Oral Health Epidemiol* 20, 313-321.
17. BEIKLER, T., KARCH, H. (2005). Mikrobiologische Diagnostik in der Parodontitistherapie. Stellungnahme der DGP und DGZMK. *Dt Zahnärztl Z* 60, 660-662.
18. BEIKLER, T., PRIOR, K., EHMKE, B., FLEMMING, T. F. (2004). Specific antibiotics in the treatment of periodontitis - A proposed strategy. *J Periodontol* 75, 169-175.
19. BEN-ARYEH, H., SEROUYA, R., KANTER, Y., SZARGEK, R., LAUFER, D. (1993). Oral health and salivary composition in diabetic patients. *J Diabetes Complic* 7, 57-62.
20. BERGSTRÖM, M. K., EDWARDSSON, S., SVENSÄTER, G., TWETMAN, S. (2000). Acid formation in sucrose-exposed dental plaque in relation to caries incidence in school children. *Clin Oral Investig* 4, 9-12.
21. BETTS, R. H., DANTON, F. S. (1953). Electron transfer and other processes involved in the spontaneous bleaching of acidified aqueous of ferric thiocyanate. *J Am Chem Soc* 75, 5721-5727.

22. BIZHANG, M., LEY, M., ZIMMER, S. (2004). Correlation between Clinpro Cario diagnosis and clinical parameters. *Int Poster J Dent Oral Med* 2004 6, Poster Abstract Nr. 231.
23. BOSE, M., RUDOVICS, V., OTT, K. H. R. (1992): Zur Reproduzierbarkeit von Speicheltests. In: LÖST, C., BRATTHALL, D., SCHLAGENHAUF, U. (Hrsg.): 1. Konsensussymposium Tübingen 1991: Nutzerorientierte Prävention mittels Risikodiagnostik.; S. 111-118. Berlin: Quintessenz.
24. BRATTHALL, D., HÄNSEL PETERSSON, G. (2005). Cariogram- A multifactorial risk assessment model for a multifactorial disease. *Community Dent Oral Epidemiol* 33, 256-264.
25. BRATTHALL, D., HÄNSEL PETERSSON, G., STJERNSWÄRD, J. R. (2004). Cariogram manual. Internet Version 2.01 <http://www.db.od.mah.se/car/cariogram/cariogmanual201net.pdf>.
26. BRATTHALL, D., HÄNSEL PETERSSON, G., SUNDBERG, H. (1996). Reasons for the caries decline: What do the experts believe? *Eur J Oral Sci* 104, 416-422.
27. BRECX, M., THEILADE, E., ATTSTRÖM, R. (1983). An ultrastructural quantitative study of the significance of microbial multiplication during early dental plaque growth. *J Periodont Res* 18, 177-182.
28. BUENO, L. C., MAYER, M. P., DIRIENZO, J. M. (1998). Relationship between conversion of juvenile periodontitis-susceptible children from health to disease and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin promoter structure. *J Periodontol* 69, 998-1007.
29. CARRANZA, F. A. (1996): Bone loss and patterns of bone destruction. In: CARRANZA, F. A., NEWMAN, F. G. (Hrsg.): *Clinical periodontology*; S. 297-305. Philadelphia: Saunders.
30. CAUFIELD, P. W., CUTTER, G. R., DASANAYAKE, A. P. (1993). Initial acquisition of mutans streptococci by infants: Evidence for a discrete window of infectivity. *J Dent Res* 72, 37-45.
31. CHRISTERSSON, L. A., FRANSSON, C. L., DUNFORD, R. G., ZAMBON, J. J. (1992). Subgingival distribution of periodontal pathogenic microorganisms in adult periodontitis. *J Periodont* 63, 418-422.
32. CHUBA, P. J., PELZ, K., KREKELER, G., DE ISELE, T. S., GÖBEL, U. (1988). Synthetic oligodeoxanucleotide probes for the rapid detection of bacteria associated with human periodontitis. *J Gen Microbiol* 134, 1931-1938.

33. CLARKE, J. K. (1924). On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. *Brit J Exp Pathol* 5, 141-147.
34. CLEATON-JONES, P., HARGREAVES, J. A., FATTI, L. P., CHANDLER, H. D., GROSSMAN, E. S. (1989). Dental caries diagnosis calibration for clinical field surveys. *Caries Res* 23, 195-209.
35. CONRADS, G., BRAUNER, A., LAMPERT, F. (1995). Digoxigenin-merkierte 16S-rRNA-Sonden zum direkten Nachweis von Bakterien in subgingivaler Plaque. *Dt Zahnärztl Z* 50, 312-315.
36. CONRADS, G., FLEMMIG, T. H., SEYFARTH, I., LAMPERT, F., LÜTTICKEN, R. (1999). Simultaneous detection of *Bacteroides forsythus* and *Prevotella intermedia* by 16S rRNA gene-directed multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 37, 1621-1626.
37. CONRADS, G., MUTTERS, R., FISCHER, J., BRAUNER, A., LÜTTICKEN, R., LAMPERT, F. (1996). PCR reaction an dot-blot hybridization to monitor the distribution of oral pathogens within plaque samples of periodontally health individuals. *J Periodontol* 67, 994-998.
38. CROSSNER, C. G. (1981). Salivary lactobacillus counts in the prediction of caries activity. *Comm Dent Oral Health Epidemiol* 9, 182-190.
39. DARWISH, S., HYPPEA, T., SOCRANSKY, S. S. (1978). Studies of the predominant cultivable microbiota of early periodontitis. *J Periodont Res* 13, 1-18.
40. DEMERS, M., BRODEUR, J. M., MOUTON, C., SIMARD, P. L., TRAHAN, L., VEILLEUX, G. (1990). Caries predictors suitable for mass-screenings in children: A literature review. *Comm Dent Oral Health Epidemiol* 7, 11-21.
41. DEMERS, M., BRODEUR, J. M., MOUTON, C., SIMARD, P. L., TRAHAN, L., VEILLEUX, G. (1992). A multivariate model to predict caries increment in Montreal children aged 5 years. *Comm Dent Health* 9, 273-281.
42. DEVULAPALLE, K. S., GOMEZ DE SEGURA, A., FERRER, M., ALCALDE, M., MOOSER, G., PLOU, F. J. (2004). Effect of carbohydrate fatty acid esters on *Streptococcus sobrinus* and glucosyltransferase activity. *Carbohydr Res* 339, 1029-1034.
43. DRAKE, C. W., HUNT, R. J., BECK, J. D., KOCH, G. G. (1994). Eighteen-month coronal caries incidence in North Carolina older adults. *J Public Health Dent* 54, 24-30.

44. EDGAR, W. M., HIGHAM, S. M., MANNING, R. H. (1994). Saliva stimulation and caries prevention. *Adv Dent Res* 8, 239-245.
45. EICKHOLZ, P. (1999). Konventionelle Parodontalchirurgie und gesteuerte Geweberegeneration (GTR) mit nicht-resorbierbaren und biologisch abbaubaren Barrieren. Eine vergleichende klinische Untersuchung unter besonderer Berücksichtigung von Reproduzierbarkeit und Validität der erhobenen Parameter bzw. verwendeten Meßverfahren. Berlin: Quintessenz.
46. EINWAG, J. (1997): Prophylaxe. In: EINWAG, J., PIEPER, K. (Hrsg.): Kinderzahnheilkunde; S. 95-144. München: Urban & Schwarzenberg.
47. ERNST, C. P., WILLERSHAUSEN, B. (2005). Anwenderbefragung über einen neuartigen Milchsäureindikator-Test zur Bestimmung des allgemeinen Kariesrisikopotenzials. *Quintessenz* 56, 173-184.
48. FEATHERSTONE, J. D. (1999). Prevention and reversal of dental caries: Role of low level fluoride. *Comm Dent Oral Health Epidemiol* 27, 31-40.
49. FEJERSKOV, O., SCHEIE, A., MANJI, F. (1992). The effect of sucrose on plaque pH in the primary and permanent dentition of caries-inactive and -active Kenyan children. *J Dent Res* 71, 25-31.
50. FERRANDO, R., SZPONAR, B., SANCHEZ, A., LARSSON, L., VALERO-GUILLEN, P. L. (2005). 3-Hydroxy fatty acids in saliva as diagnostic markers in chronic periodontitis. *J Microbiol Methods* 62, 285-291.
51. FISCHER, C., LUSSI, A., HOTZ, P. (1995). Kariostatische Wirkungsmechanismen der Fluoride. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 105, 311-313.
52. FLEMMIG, T. H., CHRISTGAU, M., KARCH, H. (1998). Mikrobiologische Diagnostik marginaler Parodontopathien. Gemeinsame Stellungnahme der DGP und DGZMK. *Dt Zahnärztl Z* 53, 825-831.
53. GAO, X. J., FAN, Y., KENT, R. L., VAN HOUTE, J., MARGOLIS, H. C. (2001). Association of caries activity with the composition of dental plaque fluid. *J Dent Res* 80, 1834-1839.
54. GIBBS, C. H., HIRSCHFELD, J. W., LEE, J. G., MAGNUSSON, I., THOUSAND, R. R., YERNENI, P., CLARK, W. B. (1988). Description and clinical evaluation of a new computerized periodontal probe - the Florida Probe. *J Periodontol* 15, 137-142.
55. GOLD, O. G., JORDAN, H. V., VAN HOUTE, J. (1973). A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol* 18, 1356-1364.

56. GREENSPAN, J. S. (2001): Oral manifestations of disease. In: BRAUNWALD, E., FAUCI, A. S., KASPER, D. L., HAUSER, S. L., LONGO, D. L., JAMESON, J. L. (Hrsg.): Harrison's Principles of Internal Medicine, 15th ed.; S. 193-199. New York: McGraw-Hill.
57. GUSTAFSSON, B. E., QUENSELN, C. E., SWENANDER LANKE, L., LANDQVIST, C., GRAHNEN, H., BOHNEN, B. E., KRASSE, B. (1954). The effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. *Acta Odontol Scand* 11, 232-264.
58. HAEBERLEIN, I., KAPPLER, O., SAFI, A., GUGGENBERGER, R. (2003). Reproduzierbarkeit von Ergebnissen mit Clinpro Cario L-Pop. IADR, International Association of Dental Research, Abstract Nr. 2068.
59. HAFFAJEE, A. D., SOCRANSKY, S. S. (1992). Effect of sampling strategy on the false-negative rate for detection of selected subgingival species. *Oral Microbiol Immunol* 7, 57-59.
60. HAFFAJEE, A. D., SOCRANSKY, S. S., SMITH, C., DIBART, S. (1992). The use of DNA probes to examine the distribution of subgingival species in subjects with different levels of periodontal destruction. *Clin Periodontol* 19, 84-91.
61. HALFT, M., SCHRÖDER, J., FRENTZEN, M. (2001). Möglichkeiten zur mikrobiologischen Überprüfung der Wirksamkeit lokal applizierter antimikrobieller Pharmaka. *Dt Zahnärztebl* http://www.dent-all.de/Fachinformationen/Zahnmed.Fachgebiete/Kariologie/86_index+M55a164a9c94.html.
62. HANAKI, M., NAKAGAKI, H., NAKAMURA, H., KONDO, K., WEATHERELL, J. A., ROBINSON, C. (1993). Glucose clearance from different surfaces of human central incisors and first molars. *Arch Oral Biol* 38, 479-482.
63. HÄNSEL PETERSSON, G., BRATTHALL, D. (2000). Caries risk assessment: a comparison between the computer program 'Cariogram', dental hygienists and dentists. *Swed Dent J* 24, 129-137.
64. HÄNSEL PETERSSON, G., FURE, S., BRATTHALL, D. (2003). Evaluation of a computer-based caries risk assessment program in an elderly group of individuals. *Acta Odontol Scand* 61, 164-171.
65. HAYES, M. L. (1984). The effects of fatty acids and their monoesters on the metabolic activity of dental plaque. *J Dent Res* 63, 2-5.

66. HEASMAN, P. A., COLLINS, J. G., OFFENBACHER, S. (1993). Changes in crevicular fluid levels of interleukin-1 beta, leukotriene B4, prostaglandine E2, thromboxane B2 and tumour necrosis factor alpha in experimental gingivitis in humans. *J Periodont Res* 28, 241-247.
67. HEINRICH, R., JOHN, M., LENZ, E., MICHEELIS, W., POTTHOFF, P., REICH, E., REICHART, P. A., SCHIFFNER, U., SCHROEDER, E., VON THÖRNE, I., WEFERS, K. P. (1999). Dritte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS III). Herausgegeben vom Institut der Deutschen Zahnärzte im Auftrag der Bundeszahnärztekammer und der Kassenzahnärztlichen Bundesvereinigung.
68. HELFENSTEIN, U., STEINER, M., MARTHALER, T. M. (1991). Caries prediction on the basis of past caries including precavity lesions. *Caries Res* 25, 372-376.
69. HOLBROOK, W. P., DE SOET, J. J., DE GRAAFF, J. (1993). Prediction of dental caries in pre-school children. *Caries Res* 27, 424-430.
70. HOSHINO, T., KAWAGUCHI, M., SHIMIZU, N., HOSHINO, N., OOSHIMA, T., FUJIWARA, T. (2004). PCR detection and identification of oral streptococci in saliva samples using gtf genes. *Diagn Microbiol Infect Dis* 48, 195-199.
71. IMFELD, T., BIRKHED, D., LINGSTRÖM, P. (1995). Effect of urea in sugar-free chewing gums on pH recovery in human dental plaque evaluated with three different methods. *Caries Res* 29, 172-180.
72. ISOKONGAS, P., TENOVUO, J., SÖDERLING, E., MÄNNISTÖ, H., MÄKINEN, K. K. (1991). Dental caries and mutans streptococci in the proximal areas of molars affected by the habitual use of xylitol chewing gum. *Caries Res* 25, 444-448.
73. JENSEN, B., BRATTHALL, D. (1989). A new method for estimation of mutans streptococci in human saliva. *J Dent Res* 68, 468-471.
74. JENTSCH, H., BUCHMANN, W., PIENIHAKKINEN, K., TIEKSO, J., SCHEININ, A., BEETKE, E. (1992). Zur Einschätzung des Kariesrisikos für junge Erwachsene. *Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl* 80, 227-230.
75. JERVOE-STORM, P. M., FRENTZEN, M., NOLDEN, R. (1992). Mikrobiologische Schnelltestung anaerober Mikroorganismen in der Parodontaltherapie. *Dtsch Zahnärztl Z* 47, 397-402.

76. JERVOE-STORM, P. M., KRUPPENBACHER, J. P., NOLDEN, R. (2000). Anwendung eines neuen mikrobiologischen Tests in der Parodontitistherapie. *Dt Zahnärztl Z* 6, 407-410.
77. JOHANSSON, I., LENANDER-LUMIKARI, M., SEALLSTRÖM, A. K. (1994). Saliva composition in Indian children with chronic protein-energy malnutrition. *J Dent Res* 73, 11-19.
78. JOSHI, A., PAPAS, A. S., GIUNTA, J. (1993). Root caries incidence and associated risk factors in middle-aged and older adults. *Gerodontology* 10, 83-89.
79. KALSBECK, H., VERRIPS, G. H. (1990). Dental caries prevalence and the use of fluorides in different European countries. *J Dent Res* 69, 728-732.
80. KARJALAINEN, S., SODERLING, E., PIENIHAKKINEN, K. (2004). Validation and inter-examiner agreement of mutans streptococci levels in plaque and saliva of 10-year-old children using simple chair-side tests. *Acta Odontol Scand* 62, 153-157.
81. KAVANAGH, D. A. (1998). The incidence of periodontal disease and its impact on future dental practice. *Dent Update* 25, 435-441.
82. KAZOR, C. E., MITCHELL, P. M., LEE, A. M., STOKES, L. N., LOESCHE, W. J., DEWHIRST, F. E., PASTER, B. J. (2003). Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *J Clin Microbiol* 41, 558-563.
83. KEYES, P. H., JORDAN, H. V. (1963): Factors influencing initiation, transmission and inhibition of dental caries. In: HARRIS, R. (Hrsg.): *Mechanisms of hard tissue destruction.*; S. 262-283. New York: Academic Press.
84. KIEL, R. A., LANG, N. P. (1983). Effect of subgingival sampling techniques on periodontal microbiological culturing. *J Dent Res* 62, 247.
85. KINGMAN, A., LITTLE, W., GOMEZ, I., HEIFETZ, S. B., DRISCOLL, W. S., SHEATS, R. (1988). Salivary levels of *Streptococcus mutans* and lactobacilli and dental caries experience in a US adolescent population. *Comm Dent Oral Health Epidemiol* 16, 98-103.
86. KIRSTILA, V., HAKKINEN, P., JENTSCH, H., VILJA, P., TENOVUO, J. (1998). Longitudinal analysis of the association of human salivary antimicrobial agents with caries increment and cariogenic micro-organisms: a two-year cohort study. *J Dent Res* 77, 73-80.

87. KLIMM, W. (1997). Kariologie - Ein Leitfaden für Studierende und Zahnärzte. München: Hanser.
88. KLOCK, B., EMILSON, C. G., LIND, S. O., GUSTAVSDOTTIR, M., OLHEDE-WESTERLUND, A. M. (1989). Prediction of caries activity in children with today's low caries incidence. *Comm Dent Oral Health Epidemiol* 17, 285-288.
89. KNEIST, S. (1998). Zu bislang nicht klassifizierten Begleitphänomenen in der mikrobiologischen Speicheldiagnostik. *Oralprophylaxe* 20, 208-217.
90. KNEIST, S., HEINRICH-WELTZIEN, R. (2001). Rund um den Speicheltest. *zm-online* http://www.zm-online.de/m5a.htm?/zm/17_01/pages2/zmed2.htm.
91. KNEIST, S., HEINRICH-WELTZIEN, R., SPLIETH, C. (2000a): Durchführung von mikrobiologischen Speicheltests in der Praxis. In: SPLIETH, C. (Hrsg.): *Professionelle Prävention: Zahnärztliche Prophylaxe für alle Altersgruppen.*; S. 46-54. Berlin: Quintessenz.
92. KNEIST, S., RICHTER, A., FINKE, C. (2000b). Keimzahlklassen von Mutans-Streptokokken (MS) und Laktobazillen (LB) bei unterschiedlicher Arealbeimpfung des Caries Risk Test (CRT). 32. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Grundlagenforschung (AfG) in der DGZMK. 13.14.1.2000, Mainz. <http://www.charite.de/ch/kiz/poster/richter/>.
93. KÖHLER, B., ANDRÉEN, I. (1994). Influence of caries-preventive measures in mothers on cariogenic bacteria and caries experience in their children. *Arch Oralg* 39, 907-911.
94. KÖHLER, B., ANDRÉEN, I., JONSSON, B. (1984). The effect of caries-preventive measures in mothers on dental caries and the oral presence of the bacteria *Streptococcus mutans* and lactobacilli in their children. *Arch Oral Biol* 29, 879-883.
95. KÖNIG, K. G. (1971). *Karies und Kariesprophylaxe*. München: Goldmann.
96. KORNMAN, K. S., CRANE, A., WANG, H. Y., DI GIOVINE, F. S., NEWMAN, M. G., PIRK, F. W., WILSON, T. G., HIGGINBOTTOM, F. L., DUFF, G. W. (1997). The interleukin-1 genotype as a severity factor in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 24, 72-77.
97. KRANTZ-SCHÄFERS, C., KECK, F., HORNECKER, E., MAUSBERG, R., ARGLEBE, C., ATTIN, T. (2002). Kann die Speichelchemie Hinweise auf das Vorliegen einer aggressiven Parodontitis geben? *Zahnärztl Welt Umschau* 111, 671-675.

98. KUBONIWA, M., AMANO, A., KIMURA, K. R., SEKINE, S., KATO, S., YAMAMOTO, Y., OKAHASHI, N., IIDA, T., SHIZUKUISHI, S. (2004). Quantitative detection of periodontal pathogens using real-time polymerase chain reaction with TaqMan probes. *Oral Microbiol Immunol* 19, 168-176.
99. LAGERLÖF, F., OLIVEBY, A. (1994). Caries-protective factors in saliva. *Adv Dent Res* 8, 229-238.
100. LAMB, W. J., CORPRON, R. E., MORE, F. G., BELTRAN, E. D., STRACHAN, D. S., KOWALSKI, C. J. (1993). In situ remineralization of subsurface enamel lesion after the use of a fluoride chewing gum. *Caries Res* 27, 111-116.
101. LANG, N. P., MOMBELLI, A., ATTSTRÖM, R. (1999): Zahnplaque und Zahnstein. In: LINDHE, J., KARRING, T., LANG, N. P. (Hrsg.): *Klinische Parodontologie und Implantologie*.; S. 102-105. Berlin: Quintessenz.
102. LARMAS, M. (1975). A new dip slide method for the counting of salivary lactobacilli. *Proc Finn Dent Soc* 71, 31-35.
103. LAWRENCE, H. P., HUNT, R. J., BECK, J. D. (1995). Three-year root caries incidence and risk modeling in older adults. *J Public Health Dent* 55, 69-78.
104. LCL BIOKEY (2006). LCR-Karies-Test. Früherkennung und Verlaufskontrolle der Karies mittels Nachweis der Markerbakterien über Gensonden und PCR sowie Bestimmung der Pufferkapazität im Speichel. Informationsbroschüre für Zahnärzte. Version 1.1. Fa. LCL biokey, Aachen.
105. LEVERETT, D. H., FEATHERSTONE, J. D., PROSKIN, H. M., ADAIR, P. M., EISENBERG, A. D., MUNDORFF-SHRESTHA, S. A., SHIELDS, C. P., SHAFFER, C. L., BILLINGS, R. J. (1993). Caries risk assessment by a cross-sectional discrimination model. *J Dent Res* 72, 529-537.
106. LEVINE, M. J., REDDY, M. S., TABAK, L. A., LOOMIS, R. E., BERGEY, E. J., JONES, P. C., COHEN, R. E., STINSON, M. W., AL-HASHIMI, K. (1987). Structural aspects of salivary glycoproteins. *J Dent Res* 66, 436-441.
107. LI, Y., CAUFIELD, P. W. (1995). The fidelity of initial acquisition of mutans streptococci by infants from their mothers. *J Dent Res* 74, 681-685.
108. LINDQUIST, B., EMILSON, C. G. (1991). Dental location of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in humans harboring both species. *Caries Res* 25, 146-152.

109. LISTGARTEN, M. (1994). The structure of dental plaque. *Periodontology* 5, 52-57.
110. LISTGARTEN, M., HELLDEN, E. (1978). Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. *J Clin Periodontol* 5, 115-123.
111. LLENA-PUY, M. C., MONTANANA-LLORENS, C., FORNER-NAVARRO, L. (2000). Cariogenic oral flora and its relation to dental caries. *ASDC J Dent Child* 67, 42-49.
112. LOCKER, D. (1996). Incidence of root caries in an older Canadian population. *Comm Dent Oral Health Epidemiol* 24, 403-407.
113. LÖE, H., THEILADE, E., JENSEN, S. B. (1965). Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 36, 177-187.
114. LOESCHE, W. J., GROSSMAN, E. S. (2001). Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: Diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Rev* 14, 727-752.
115. LOOMER, P. M. (2004). Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases. *Periodontology 2000* 34, 49-56.
116. LYONS, S. R., GRIFFEN, A. L., LEYS, E. J. (2000). Quantitative real-time PCR for *Porphyromonas gingivalis* and total bacteria. *J Clin Microbiol* 38, 2362-2365.
117. MANNING, R. H., EDGAR, W. M. (1992). Intraoral methods for studying de- and remineralization in man: Methodology and measurement. *J Dent Res* 71, 895-900.
118. MARCOTTE, H., LAVOIE, M. C. (1998). Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol Molec Biol Rev* 72, 71-109.
119. MARGOLIS, H. C., MORENO, E. C. (1994). Composition and cariogenic potential of dental plaque fluid. *Crit Rev Oral Biol Med* 5, 1-25.
120. MARGOLIS, H. C., ZHANG, Y. P., GEWIRTZ, A., VAN HOUTE, J., MORENO, E. C. (1993a). Cariogenic potential of pooled plaque fluid from exposed root surfaces in humans. *Arch Oral Biol* 38, 131-138.
121. MARGOLIS, H. C., ZHANG, Y. P., VAN HOUTE, J., MORENO, E. C. (1993b). Effect of sucrose concentration on the cariogenic potential of pooled plaque fluid from caries-free and caries-positive individuals. *Caries Res* 27, 467-473.

122. MARTHALER, T. M. (2004). Changes in dental caries 1953-2003. *Caries Res* 38, 173-181.
123. MICHEELIS, W., REICH, E. (1999). Dritte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS III). Institut der Deutschen Zahnärzte (IDZ Materialreihe Band 21). Deutscher Ärzteverlag Köln.
124. MICHEELIS, W., SCHIFFNER, U. (2006). Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV). Institut der Deutschen Zahnärzte (IDZ) im Auftrag von Bundeszahnärztekammer und Kassenzahnärztlicher Bundesvereinigung.
125. MILGROM, P., REISINE, S. (2000). Oral health in the United States: The post-fluoride generation. *Annu Rev Public Health* 21, 403-411.
126. MOHAN, A., MORSE, D. E., O'SULLIVAN, D. M., TINANOFF, N. (1998). The relationship between bottle usage/content, age, and number of teeth with mutans streptococci colonization in 6-24 month-old children. *Comm Dent Oral Health Epidemiol* 26, 12-20.
127. MOMBELLI, A., CASAGNI, F., MADIANOS, P. N. (2002). Can presence oder absence of periodontal pathogens distinguish between subjects with chronic and aggressive parodontitis? A systematic review. *J Clin Periodontol* 29, 10-21.
128. MONHOIS, V., WILLEMOT, R. M., MONSAN, P. (1999). Glucansucrases: Mechanism of action and structure-functioning relationships. *FEMS Microbiol Rev* 23, 131-151.
129. MOORE, W. E. C., MOORE, L. V. H. (1994). The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology* 5, 66-77.
130. MOSS, M. E., ZERO, D. T. (1995). An overview of caries risk assessment and its potential utility. *J Dent Edu* 59, 932-937.
131. NIH (2001). Diagnosis and management of dental caries throughout life. *J Am Dent Assoc* 132, 1153-1161.
132. NONNENMACHER, C., DALPKE, A., MUTTERS, R., HEEG, K. (2004). Quantitative detection of periodontopathogens by real-time PCR. *J Microbiol Methods* 59, 117-125.
133. OMAR, A. A., NEWMAN, H. N., BULMAN, J., OSBORN, J. (1990). Dark-ground microscopy of subgingival plaque from the top to the bottom of the periodontal pocket. *J Clin Periodontol* 17, 364-369.

134. PAGE, R. C., SCHROEDER, D. W. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest* 33, 235-247.
135. PAQUETTE, D. W. (2002). The periodontal infection-systemic disease link: A review of the truth or myth. *J Int Acad Periodontol* 4, 101-109.
136. PARVINEN, T., PARVINEN, I., LARMAS, M. (1994). Stimulated salivary flow rate, pH and lactobacillus and yeast concentrations in medicated persons. *Scand J Dent Res* 92, 524-532.
137. PASTER, B. J., BOCHES, S. K., GALVIN, J. L., ERICSON, R. E., LAU, C. N., LEVANOS, V. A., SAHASRABUDHE, A., DEWHIRST, F. E. (2001). Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 183, 3770-3873.
138. PFISTER, W., WUTZLER, P., GANGLER, P., LINDEMANN, C. (1987). Die Plaquemikroflora der gesunden Gingiva sowie bei Gingivitis und Periodontitis marginalis. *Zahn Mund Kieferheilkd* 75, 804-812.
139. PIENIHAKKINEN, K. (1987). Caries prediction through combined use of incipient caries lesions, salivary buffering capacity, lactobacilli and yeasts in Finland. *Comm Dent Oral Health Epidemiol* 15, 325-328.
140. PIENIHAKKINEN, K., JOKELA, J. (2002). Clinical outcomes of risk-based caries prevention in preschool-aged children. *Community Dent Oral Epidemiol* 30, 143-150.
141. PIEPER, K., HÜLSMANN, M. (1990). Der Patient mit erhöhtem Kariesrisiko. *Zahnärztl Welt* 99, 160-169.
142. PLAGMANN, H. C. (1998). *Lehrbuch der Parodontologie*. Stuttgart: Deutscher Zahnärzterverlag.
143. RASSHOFER, R. (1999). Mikrobiologische Diagnostik bei Parodontopathien. *Zahnheilkunde, Management und Kultur* 3, 1-7.
144. REICH, E. (1995). Welche Faktoren führen zu einem hohen Kariesrisiko? *Dtsch Zahnärztl Z* 50, 769-775.
145. REICH, E., BÖSSMANN, K. (1994). Stellenwert der Speicheldiagnostik im Rahmen der Kariesprävention. *Wissenschaftliche Stellungnahme der DGZMK 4/94, Version 1.0*.
146. ROGOSA, M., MITCHELL, J. A., WISEMANN, R. F. (1951). A selective medium for isolation and enumeration of oral lactobacilli. *J Dent Res* 30, 1711-1719.

147. RÖTGER, A. (2003). Labordiagnostik der Parodontitis. MTA Dialog 12, 1040-1043.
148. ROTHWELL, B. W. (1987). Prevention and treatment of the orofacial complications of radiotherapy. J Am Dent Assoc 114, 316-322.
149. RUDNEY, J. D., HICKNEY, K. L., JI, Z. (1999). Cumulative correlations of lysozyme, lactoferrin, peroxidase, S-IgA, amylase, and total protein concentrations with adherence of oral viridans streptococci to microplates coated with human saliva. J Dent Res 78, 759-768.
150. RUSSELL, J. I., MACFARLANE, T. W., AITCHISON, T. C., STEPHEN, K. W., BURCHELL, C. K. (1991). Prediction of caries increment in Scottish adolescents. Comm Dent Oral Health Epidemiol 19, 74-77.
151. SBORDONE, L., BORTOLAIA, C. (2003). Oral microbial biofilms and plaque-related diseases: Microbial communities and their role in the shift from oral health to disease. Clin Oral Investig 7, 181-188.
152. SCHÄTZLE, M., LÖE, H., LANG, N. P., BURGİN, W., ANERUD, A., BOYSEN, H. (2004). The clinical course of chronic periodontitis. J Clin Periodontol 31, 1122-1124.
153. SCHIFFNER, U., TORRES-QUINTERO, A. (2005). Reproducibility of a new caries risk test under different oral conditions. Clin Oral Investig 9, 187-191.
154. SCHMALZ, G., JOISTEN, R. (1990). Bestimmung des Kariesrisikos bei Bundeswehrsoldaten. Oralprophylaxe 12, 28-35.
155. SCHRÖDER, H. E. (1987). Klinik und Pathologie verschiedener Formen von Parodontitis. Dt Zahnärztl Z 42, 417-421.
156. SCHRÖDER, U., EDWARDSSON, S. (1987). Dietary habits, gingival status and occurrence of Streptococcus mutans and lactobacilli as predictors of caries in 3-year-olds in Sweden. Comm Dent Oral Health Epidemiol 15, 320-324.
157. SCHRÖDER, U., WIDENHEIM, J., PEYRON, M., HÄGG, E. (1994). Prediction of caries in 1 1/2 year-old children. Swed Dent J 18, 95-104.
158. SEEMANN, R. (1998). Speicheltests zur Kariesrisikobestimmung - Eine anwendungsbezogene Übersicht. Quintessenz Team-Journal 28, 13-17.
159. SELLMANN, H. (2003). Kariesrisikotest jetzt auch als DNS-Sonden-Test. Dentalspiegel 1/2003, <http://www.franzmedien.com/O/145/Y/83867/default.aspx>.

160. SHI, S., DENG, Q., HAYASHI, Y., YAKUSHIJI, M., MACHIDA, Y., LIANG, Q. (2003). A follow-up study on three caries activity tests. *J Clin Pediatr Dent* 27, 359-364.
161. SIKORSKA, M. H., MIELNIK-BLASZCZAK, M., KAPEC, E. (2002). The relationships between levels of sIgA, lactoferrin and alpha(1)proteinase inhibitor in saliva and permanent dentition caries in 15-year-olds. *Oral Microbiol Immunol* 17, 272-276.
162. SISSON, C. H., LEE, M., ANDERSON, S. A., WALL-MANNING, G. M. (2003). Caries-microbiota relationships in children by checkerboard DNA: DNA hybridization analysis: A pilot study. *Caries Res* 37, 298.
163. SLOMIANY, B. L., MURTY, V. L., MANDEL, I. D., ZALESNA, G., SLOMIANY, A. (1989). Physico-chemical characteristics of mucus glycoproteins and lipids of the human oral mucosal mucus coat in relation to caries susceptibility. *Arch Oral Biol* 34, 229-237.
164. SLOMIANY, B. L., MURTY, V. L., PIOTROWSKI, J., SLOMIANY, A. (1996). Salivary mucins in oral mucosal defense. *Gen Pharmacol* 27, 761-771.
165. SLOTS, J., ASHIMOTO, A., FLYNN, M. J., LI, G., CHEN, C. (1995). Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimen by 16S ribosomal DNA amplification with the polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 20, S304-307.
166. SLOTS, J., GENCO, R. J. (1984). Microbial pathogenicity. Black-pigmented *Bacteroides* sp., *Capnoxythophaga* sp. and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: Virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. *J Dent Res* 63, 412-418.
167. SLOTS, J., JORGENSEN, M. G. (2002). Effective, safe, practical and affordable periodontal antimicrobial therapy: Where are we going, and where are we yet? *Periodontology* 28, 298-312.
168. SMITH, G. L. F., SOCRANSKY, S. S., SMITH, C. M. (1989). Non-isotopic DNA probes for the identification of subgingival microorganisms. *Oral Microbiol Immunol* 4, 41-46.
169. SOCRANSKY, S. S., HAFFAJEE, A. D. (1992). The bacterial etiology of destructive periodontal disease: Current concepts. *J Periodontol* 63, 322-326.
170. SOCRANSKY, S. S., HAFFAJEE, A. D. (2000). Evidence of bacterial etiology: A historical perspective. *Periodontology* 5, 7-25.

171. SOCRANSKY, S. S., HAFFAJEE, A. D. (2002). Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. *Periodontology* 28, 12-55.
172. SPLIETH, C., BERNHARDT, O. (1999). Prediction of caries development for molar fissures with semiquantitative mutans streptococci tests. *Eur J Oral Sci* 107, 164-169.
173. STAMM, J. W., STEWART, P. W., BOHANNAN, H. M., DISNEY, J. A., GRAVES, R. C., ABERNATHY, J. R. (1991). Risk assessment for oral diseases. *Adv Dent Res* 5, 4-17.
174. STELZEL, M. (2003). Mikrobiologische Nachweisverfahren in der Parodontologie. *Dt Zahnärztl Z* 112, 400-407.
175. STEPHAN, R. M. (1944). Intraoral hydrogen-ion concentration associated with dental caries activity. *J Dent Res* 23, 257-260.
176. STRAETEMANS, M. M., VAN LOVEREN, C., DE SOET, J. J., DE GRAAFF, J., TEN CATE, J. M. (1998). Colonization with mutans streptococci and lactobacilli and the caries experience of children after the age of five. *J Dent Res* 77, 1851-1855.
177. STUART, P. W., STAMM, J. W. (1991). Classification of three prediction models for dental caries from clinical, microbiological and interview data. *J Dent Res* 70, 1239-1243.
178. SYNDER, M. L., TEACHOUT, J. J. (1942). Acid production of oral bacteria associated with dental caries. *J Dent Res* 21, 461-466.
179. TAICHMAN, N., LINDHE, J. (1989): Pathogenesis of plaque-associated periodontal disease. In: LINDHE, J. (Hrsg.): *Textbook of Clinical Periodontology*; S. 153-162. Copenhagen: Mungsgaard.
180. TANNER, A. C., GOODSON, J. M. (1986). Sampling of microorganisms associated with periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol* 1, 15-22.
181. TEN CATE, J. M., FEATHERSTONE, J. D. (1991). Mechanistic aspects of the interaction between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med* 2, 283-286.
182. TENOVUO, J. (1997). Salivary parameters of relevance for assessing caries activity in individuals and populations. *Community Dent Oral Epidemiol* 25, 82-86.
183. TENOVUO, J., LUMIKARI, M., SOUKKA, T. (1991). Salivary lysozyme, lactoferrin and peroxidases: antibacterial effects on cariogenic bacteria and clinical applications in preventive dentistry. *Proc Finn Dent Soc* 87, 197-208.

184. TERVONEN, T., OLIVER, R. C., WOLFF, L. F., BEREUTER, J., ANDERSON, L., AEPPLI, D. M. (1994). Prevalence of periodontal pathogens with varying metabolic control of diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 21, 375-379.
185. THEILADE, E. (1986). The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 13, 905-911.
186. TINANOFF, N. (1995). Critique of evolving methods for caries risk assessment. *J Dent Edu* 59, 980-984.
187. TOGELIUS, J., KRISTOFFERSSON, K., ANDERSON, H., BRATTHALL, D. (1984). *Streptococcus mutans* in saliva: Intraindividual variations and relation to the number of colonized sites. *Acta Odontol Scand* 42, 157-163.
188. TRAN, S. D., RUDNEY, J. D. (1996). Multiplex PCR using conserved and species-specific 16SrRNA gene primers for simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Microbiol* 34, 2674-2679.
189. TWERSKOI, V. (1999). Zuverlässigkeit von Kariesrisikovoraussagen aufgrund von Speichelanalysen. Diss. med. dent, Berlin.
190. TWETMAN, S., STAHL, B., NEDERFORS, T. (1994). Use of the strip mutans test in the assessment of caries risk in a group of preschool children. *Int J Paediatr Dent* 4, 245-250.
191. VAN LOUVEREN, C. (1990). The antimicrobial action of fluoride and its role in caries inhibition. *J Dent Res* 69, 676-681.
192. VAN NIEUW AMERONGEN, A., BOLSCHER, J. G., VEERMAN, E. C. (2004). Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res* 38, 247-253.
193. VAN RUYVEN, O. J., LINGSTRÖM, P., VAN HOUTE, J., KENT, R. L. (2000). Relationship among Mutans Streptococci, "low-pH"-bacteria, and iodophilic polysaccharide-producing bacteria in dental plaque and early caries in humans. *J Dent Res* 79, 778-784.
194. VEHKALAHTI, M., NIKULA-SARAKORPI, E., PAUNIO, I. (1996). Evaluation of salivary tests and dental status in the prediction of caries increment in caries-susceptible teenagers. *Caries Res* 30, 22-28.
195. VERRIPS, G. H., KALSBECK, H., EIJKMAN, M. A. J. (1993). Ethnicity and maternal education as risk indicators for dental caries, and the role of dental behavior. *Comm Dent Oral Health Epidemiol* 21, 209-214.

196. VITORINO, R., LOBO, M. J., DUARTE, J. R., FERRER-CORREIA, A. J., DOMINGUES, P. M., AMADO, F. M. (2005). The role of salivary peptides in dental caries. *Biomed Chromatogr* 19, 214-222.
197. VON TROIL-LINDEN, B., TORKKO, H., ALALUUSUA, S., JOUSIMIES-SOMER, H., ASIKAINEN, S. (1995). Salivary levels of suspected periodontal pathogens in relation to periodontal status and treatment. *J Dent Res* 74, 1789-1795.
198. WAHLFORS, J., MEURMAN, J. H., VAISANEN, P., ALAKUIJALA, P., KORHONEN, A., TORKKO, H., JANNE, J. (1995). Simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* by a rapid PCR method. *J Dent Res* 74, 1796-1800.
199. WALTER, C., PURUCKER, P., BERNIMOULIN, J. P., SUTTORP, N., MEYER, J., WEIGER, R. (2005). Kritische Beurteilung mikrobiologischer Diagnostik bei marginaler Parodontitis. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 115, 415-424.
200. WILSON, M. J., WEIGHTMAN, A. J., WADE, W. G. (1997). Applications of molecular ecology in the characterisation of uncultured microorganisms associated with human disease. *Rev Med Microbiol* 8, 91-101.
201. WILSON, R. F., ASHLEY, F. P. (1989). Identification of caries risk in schoolchildren: Salivary buffering capacity and bacterial counts, sugar intake and caries experience as predictors of 2-year and 3-year caries increment. *Br Dent J* 167, 99-102.
202. WOLFF, L. F., LILJEMARK, W. F., BLOOMQUIST, C. G., PIHLSTROM, B. L., SCHAFFER, E. M., BANDT, C. L. (1985). The distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human plaque. *J Periodont Res* 20, 237-250.
203. YANG, H. W., ASIKAINEN, S., DOGAN, B., SUDA, R., LAI, C. H. (2004). Relationship of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype b to aggressive periodontitis: Frequency in pure cultured isolates. *J Periodontol* 75, 592-599.
204. YANO, A., KANEKO, N., IDA, H., YAMAGUCHI, T., HANADA, N. (2002). Real-time PCR for quantification of *Streptococcus mutans*. *FEMS Microbiol Lett* 217, 23-30.
205. YOSHIDA, A., KAWADA, M., SUZUKI, N., NAKANO, Y., OHO, T., SAITO, T., YAMASHITA, Y. (2004). TaqMan real-time polymerase chain reaction assay for the correlation of *Treponema denticola* numbers with the severity of periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol* 19, 196-200.

206. ZAMBON, J. J. (1985). Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. J Clin Periodontol 12, 1-20.
207. ZAMBON, J. J., HARASZTHY, V. I. (1995). The laboratory diagnosis of periodontal infections. Periodontology 7, 69-74.
208. ZIMMER, S. (2000). Kariesprophylaxe als multifaktorielle Präventionsstrategie. Humboldt-Universität, Berlin, Habilschrift.
209. ZIMMER, S., DOSCH, S., HOPFENMÜLLER, W. (1995). Kariesrisikobestimmung durch Speicheltests. Dtsch Zahnärztl Z 50, 806-808.

Danksagung

Bei Herrn Professor Dr. med. dent. Stratmann möchte ich mich sehr herzlich für die Überlassung des Themas sowie für die stets motivierende und engagierte Betreuung bedanken.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Peter Schreier für die stetige Hilfe bei der computergestützten Erstellung der Grafiken, Tabellen und digitalen Bearbeitung der verwendeten Bildaufnahmen.

Meiner Lebensgefährtin, Frau Silke Hornburg, meiner Mutter und meinen Geschwistern danke ich von Herzen für die moralische Unterstützung und Motivation, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Lebenslauf

Name: Otto Heckl
Geburtsdatum: 01.08.1959
Geburtsort: Neuburg a. d. Donau
Familienstand: geschieden

Schulbildung:

1965-1972 Besuch der Volksschule Neuburg a. d. Donau
1972-1980 Besuch des Gabrieli-Gymnasiums Eichstätt
27.06.1980 Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife

Studium:

1980-1981 Studium der Katholischen Theologie und der Germanistik
an der Katholischen Universität Eichstätt
1981-1984 Studium der Rechtswissenschaften an der Universität
Regensburg
1984-1995 Studium der Zahnmedizin an den Universitäten
Antwerpen, Köln und Greifswald
01.10.1995 Zahnärztliche Approbation

Berufliche Tätigkeit:

1995-1998 Assistenz Zahnarzt bei Herrn Dr. med. dent. Max Beck in
Neuburg a. d. Donau
seit 1998 Niederlassung in eigener Praxis in Neuburg a. d. Donau