

Aus dem
Zentrum für Zahn-, Mund-, und Kieferheilkunde
der
Heinrich–Heine–Universität Düsseldorf

Westdeutsche Kieferklinik
Poliklinik für Parodontologie
Direktor: Prof. Dr. A. Herforth

Kann eine intraorale intraepitheliale Infektion mit
Chlamydien beim parodontal erkrankten Patienten
durch transitorische Bakteriämie zur Infektion des
Gesamtorganismus führen?

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der
Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf

Vorgelegt von

Martin – Stefan Bork

2006

Als Inauguraldissertation gedruckt
mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

gez.:	Univ.-Prof. Dr. W.H.-M. Raab Dekan
Referent:	Univ.-Prof. Dr. A. Herforth
Koreferent:	Univ.-Prof. Dr. U. Stüttgen

In Dankbarkeit meinem Vater † gewidmet.

Ich danke Herrn Prof. Dr. A. Herforth für die Möglichkeit zur Anfertigung dieser Dissertation in der Poliklinik für Parodontologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

Besonders danke ich Herrn Dr. Volker Kiel für die Betreuung dieser Arbeit und für seine Hilfe und Unterstützung.

Außerdem danke ich Herrn Prof. Dr. Heinz aus dem Institut für Mikrobiologie, Herrn Prof. Dr. Hirschhäuser aus dem Krankenhaus St. Josef in Hilden und Frau Dr. Kaminski aus der Poliklinik für Zahnärztliche Prothetik und Werkstoffkunde für die Bereitschaft zur Unterstützung.

Des weiteren geht mein Dank an alle Mitarbeiter der Poliklinik für Parodontologie der Heinrich-Heine-Universität für Ihre Ratschläge und Hilfestellung.

Außerdem danke ich allen außerhalb dieses Institutes, die mir bei der Erstellung dieser Arbeit zur Seite standen, insbesondere meinen Freunden und meiner Familie, die mich immer unterstützt haben.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Chlamydien	2
1.1.1	Chlamydia psittaci	3
1.1.2	Chlamydia pneumoniae (TWAR)	3
1.1.3	Chlamydia trachomatis	4
1.2	Hypothese und Grund der Untersuchung	5
2.	Material und Methode	6
2.1	Material	7
2.1.1	Formblatt für die Einverständniserklärung	7
2.1.2	Formblatt zur Befunderhebung	8
2.1.3	Serologische und immunologische Untersuchungen	16
2.1.4	Immunologische Gewebeuntersuchungen	18
2.2	Methode	18
2.2.1	Einverständniserklärung	18
2.2.2	Formblatt zur Befunderhebung	18
2.2.3	Serologie	18
2.2.4	Immunologische Gewebeuntersuchungen	19
2.2.4.1	SeroCP IgM, IgA & IgG ELISA	19
2.2.4.2	SeroCT IgA & IgG ELISA	20
2.2.4.3	ChlamyGen	22
2.2.4.4	COBAS Amplicor CT/NG PCR Diagnostics	24
2.2.4.5	IDEIA PCE Chlamydia	27
3.	Ergebnisse	30
3.1	Auswertung des Anamnesebogens	30
3.1.1	Familienanamnese	30
3.1.2	Allgemeinmedizinische Anamnese	31
3.1.3	Allgemeine Anamnese	33
3.2	Auswertung des Zahnstatus vor Therapiebeginn	34
3.3	Auswertung des Mundschleimhautbefundes vor Therapiebeginn	37
3.4	Auswertung des parodontalen Befundes vor Therapiebeginn	37
3.5	Entwicklung der parodontalen Befunde	39
3.6	Entwicklung der Entzündungs- und Mundhygieneindizes	43
3.7	Ergebnisse der Immunologischen Serologie	44
3.8	Ergebnisse der Immunologischen Untersuchungen	45

4.	Diskussion	47
4.1	Diskussion der Diagnostik	47
4.2	Diskussion der Ergebnisse	49
5.	Zusammenfassung	52
6.	Literaturverzeichnis	55

1. Einleitung

Innerhalb der letzten Jahre hat die Chlamydienforschung innerhalb der Humanmedizin einen neuen, erhöhten Stellenwert eingenommen [16, 27, 44]. Der mikrobiologische Nachweis von Chlamydien in atherosklerotischer Plaque ließ die Kardiologen zunächst an einen kausalen Zusammenhang zwischen der Entstehung einer koronaren Herzerkrankung und bakterieller Infektion mit Chlamydien glauben. Schnell erkannte man auch, dass die Euphorie über die hypothetische Kausalität zwischen den Befunden nicht ganz haltbar war. Chlamydien sind zwar in atherosklerotischer Plaque nachweisbar, persistieren dort aber scheinbar nur stoffwechselinaktiv ohne die Entstehung der atherosklerotischen Plaque wechselseitig zu begünstigen [2, 3, 12, 14, 30, 32, 36, 47]. Bis heute konnte eine pathogene Bedeutung der Chlamydien in der Ätiopathogenese der Atherosklerose und der häufig daraus resultierenden koronaren Herzerkrankung (KHK) nicht bewiesen werden und bleibt daher eine Hypothese [27, 32, 52]. Auch die Forschungsansätze, eine Chlamydieninfektion in Zusammenhang mit anderen Krankheiten bisher unklarer Genese zu bringen, beschränken sich in der Regel auf Einzelfalldarstellungen [27]. So konnte weder ein kausaler Zusammenhang zum Reiter-Syndrom [9, 41], dem Formenkreis der reaktiven Arthritis unklarer Genese [6, 15, 28, 35], Multipler Sklerose [58], dem chronischen Müdigkeitssyndrom [16, 27] noch zum Morbus Alzheimer [5, 48] wissenschaftlich belegt werden.

1.1. Chlamydien

Chlamydien sind unbewegliche gramnegative, obligat intrazelluläre parasitäre Bakterien, deren Zellwand keine Peptidoglykanschicht besitzt. Die Membran der Chlamydienwand baut sich aus dem genuspezifischen Antigen, einem Lipopolysaccharid (LPS) und mehreren Proteinen (Outer Membrane Proteins/OMPs) auf. Den größten Anteil der OMPs nimmt das Major Outer Membrane Protein/MOMP ein, auf dem ausschließlich die speziesspezifischen Epitope innerhalb von vier variablen Domänen der MOMP-Region lokalisiert sind. Die bakteriologische Besonderheit aller Chlamydien liegt in den während des Entwicklungs- und Vermehrungszyklus auftretenden zwei Formen als extrazelluläres, stoffwechselaktives und infektiöses Elementarkörperchen (EK, ca. 300 – 380 nm groß) und intrazelluläres, stoffwechselinaktives und nichtinfektiöses Retikularkörperchen (RK, ca. 510 – 1000 nm groß). Die Elementarkörperchen lagern sich geeigneten Zellen (häufig oberflächenauskleidende Epithelzellen) an und gelangen via Phagosom in die Zelle.

Intrazellulär wandeln sich die Elementarkörperchen innerhalb weniger Stunden (7 - 8 Stunden) in Retikularkörperchen um. Die Retikularkörperchen ihrerseits vermehren bzw. kopieren sich in großer Anzahl, sind von einer Membran umgeben und werden auch als Einschlusskörperchen bezeichnet. Innerhalb der folgenden 36 Stunden wandeln sich die Retikularkörperchen wieder in Elementarkörperchen um, welche nach Ruptur des Einschlusskörperchens frei gesetzt werden, und so weitere Zellen infizieren können. Diese Besonderheit ermöglicht es den Chlamydien, nach intrazellulärer Vermehrung und Persistenz in der Zelle in einem Organismus zu wandern.

Auf Grund fehlender ATP - Synthese können Chlamydien nicht von der Immunabwehr (z.B. Phagozytose) des Wirtes erreicht werden, da sie die ATP-Synthese der Wirtszellen zur intrazellulären Vermehrung nutzen [10, 24, 33, 37].

Drei humanpathogene Spezies der Chlamydien aus der Familie der Chlamydiaceae mit einer Vielzahl von verschiedenen Serovaren sind bekannt.

1.1.1. *Chlamydia psittaci*

Von der Spezies der *Chlamydia psittaci* ist eine Vielzahl tierspezifischer Serovare bekannt, welche bei Tieren die Zoonose bzw. Ornithose auslösen, während für den Menschen lediglich Stämme von Vögeln (Papageien) von pathogener Bedeutung sind. Der Übertragungsweg der humanpathogenen Stämme der *Chlamydia psittaci* auf den Menschen verläuft aerogen und über Kontaktinfektion mit infizierten Federn oder Kot.

Die klinischen Symptome einer *Chlamydia psittaci* Infektion des Menschen äußern sich in fieberhaften Erkrankungen mit begleitender Pneumonie, welche meistens plötzlich beginnen und mit Schüttelfrost, hohem Fieber, trockenem Husten, Bradykardie und Kopfschmerz einhergehen. Leichte Verlaufsformen bis hin zu tödlich verlaufenden Infektionen sind bekannt [33, 37].

Weiterhin sind systemische Manifestationen einer *Chlamydia psittaci* Infektion bekannt, die mit vielseitigen Verlaufs- und Erkrankungsformen (Endokarditis, Myokarditis, Perikarditis, Enzephalitis, reaktive Arthritis, Konjunktivitis, Hepatomegalie, unklare gastrointestinale Beschwerden und Kopf-, Muskel- und Gelenkschmerzen) einhergehen.

1.1.2. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR)

Von der Spezies der *Chlamydia pneumoniae* sind mehrere Serovare (TW-183, AR-39, IOL-207, AR-388, LR-65 und weitere) bekannt, welche beim Menschen zumeist unspezifische Erkrankungen des Respirationstraktes auslösen. Erstmals wurde die Spezies der Gattung *Chlamydia pneumoniae* von Grayston 1990 [18] beschrieben. Die Durchseuchung der Bevölkerung wird als sehr hoch

angenommen. Global wird mit einer jährlichen Inzidenz für Infektionen mit *Chlamydia pneumoniae* von 1-2 % der Bevölkerung gerechnet, wobei sich die Inzidenz bei älteren Menschen (>70 Lebensjahr) auf das 3fache erhöht. Durchschnittlich macht jeder Mensch einmal im Leben eine Infektion mit *Chlamydia pneumoniae* durch, wobei 70 – 90 % der Infektionen jedoch subklinisch verlaufen [27]. Der symptomfreie Infizierte kann jedoch über Jahre als Überträger fungieren und so zur Verbreitung der Spezies *Chlamydia pneumoniae* beitragen. Nach einer Erstinfektion mit *Chlamydia pneumoniae* sind Antikörper 3 – 5 Jahre [31] nachzuweisen. Der Übertragungsweg der *Chlamydia pneumoniae* auf den Menschen erfolgt von Mensch zu Mensch durch Speichel- bzw. Tröpfchenkontakt oder auf aerogenem Weg.

Die klinischen Symptome einer *Chlamydia pneumoniae* Infektion äußern sich durch das Auftreten von Erkrankungen des Respirationstraktes und dessen assoziierten Organen (akuter Pharyngitiden, Tonsillitiden, Laryngitiden, Sinusitiden, Bronchitiden und atypisch verlaufenden Pneumonien). Häufig wird die *Chlamydia pneumoniae* Infektion zu diesem Zeitpunkt nicht diagnostiziert. Vereinzelt wird auch von Endokarditis, Myokarditis, Meningoradikulitis, Erythema nodosum und reaktiver Arthritis auslösenden Infektionen durch *Chlamydia pneumoniae* berichtet.

Bei der perinatalen Übertragung von *Chlamydia pneumoniae* kommt es zu einer Neugeborenenkonjunktivitis, einer Otitis media sowie einer Pharyngitis oder auch Pneumonien.

1.1.3. *Chlamydia trachomatis*

Die Serovare der Spezies *Chlamydia trachomatis* sind bereits sehr differenziert erforscht und die bekannten Serovare kausal mit spezifischen Erkrankungsformen verbunden. Die Serotypen A - C rufen eine chronisch rezidivierende Erkrankung der Bindehäute und der Hornhaut hervor, welche als Trachom bezeichnet wird.

Besonders in den Entwicklungsländern tritt das endemische Trachom noch millionenfach auf, wobei diese Augeninfektion nach Jahren bzw. Jahrzehnten in hohem Maße zur Erblindung führt. Die Serotypen D - K rufen urogenitale Infektionen und Augenentzündungen hervor und werden meist auf sexuellem Weg übertragen.

Die Serotypen L1, L2 und L3 rufen das, besonders in den Tropen verbreitete Lymphogranuloma venereum (LGV) hervor. Das Lymphogranuloma venereum gilt als Geschlechtskrankheit mit geringer Häufigkeit und Verbreitung. Der Übertragungsweg ist der gleiche wie der, der Serotypen D – K, nämlich der sexuelle Weg.

Die jährliche Inzidenz liegt nach Schätzungen der Center of Disease Control and Prevention in Atlanta bei 50 Millionen, wobei 700 Millionen Menschen weltweit infiziert seien. Ein Grund für die starke Verbreitung von Infektionen mit *Chlamydia trachomatis* ist der häufig schleichende Verlauf, während dessen oft erst Wochen, Monate oder Jahre nach Erstinfektion Symptome auftreten.

1.2. Hypothese und Grund der Untersuchung

Grundlage unserer Studie war die Hypothese: „Kann eine intraorale intraepitheliale Infektion mit Chlamydien beim parodontal erkrankten Patienten durch transitorische Bakteriämie zur Infektion des Gesamtorganismus führen?“.

Ziel der Arbeit war es, die pathogene Rolle von Chlamydien für den Menschen weiter zu differenzieren und einen Nachweis über das Vorhandensein von Chlamydien im Taschenepithel parodontal erkrankter Patienten zu führen. Weiterhin sollte abgeklärt werden, ob ein Zusammenhang zwischen einer parodontalen Infektion mit Chlamydien und Allgemeinerkrankungen wie der Arthritis unklarer Genese, dem Reiter-Syndrom, der Atherosklerose und anderen in der Literatur genannten Krankheiten hergestellt werden kann [16, 26, 27, 38, 53].

2. Material und Methode

Das Patientengut wurde aus dem Studentenbehandlungskurs der Zahnerhaltung Teil II der Westdeutschen Kieferklinik des Universitätsklinikums Düsseldorf nach einer vorausgegangenen Voruntersuchung sowie einer parodontologischen Vorbehandlung ausgewählt. Als Kriterium für die Auswahl der Patienten wurde das Vorliegen einer unbehandelten Chronischen Parodontitis festgelegt.

Nach Erhebung des Parodontalstatus wurde eine venöse Blutentnahme zur immunologisch serologischen Bestimmung auf eine bereits durchlebte bzw. akute Infektion mit einer der drei Chlamydiengattungen (*Chlamydia psittaci*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*) vorgenommen. Anschließend wurde bei jedem Patienten eine konservativ geschlossene Parodontalbehandlung (Scaling, Root planning, Kürettage - SRC) durchgeführt. Das dabei entfernte Taschenepithel und Granulationsgewebe wurde immunologisch mit drei ELISA-Testverfahren (SeroCP[®], SeroCT[®] und Chlamygen[®]) und zwei herstellerverschiedenen PCR-Tests (DAKO-IDEIA[™]PCE Chlamydia[®] und Cobas Amplicor[™] von Roche) auf Chlamydien bzw. Anti-Chlamydia Antikörper untersucht.

Pro Patient wurden jeweils sechs Proben für die verschiedenen immunologischen Untersuchungsverfahren entnommen, wobei aus jedem erkrankten Sextanten des Zahnstatus eine Probe entnommen wurde.

Die klinische Studie wurde im ersten Teil während des Wintersemesters 1999/2000 und der zweite Teil im Sommersemester 2001 durchgeführt.

Eine Unbedenklichkeitserklärung der Ethikkommission der Universität Düsseldorf wurde vor Studiendurchführung eingeholt.

2.1 Material

2.1.1 Formblatt für die Einverständniserklärung

Bei der vorliegenden Arbeit war zu Beginn einer jeden Untersuchung eine Einverständniserklärung der Probanden obligat.

Diese wurde mindestens 24 Stunden vor Beginn der Studie den Probanden (siehe Abb. 1) vorgelegt, worin über Ablauf und Ziele der Studie, die Notwendigkeit einer venösen Blutentnahme und das jeder Zeit mögliche Ausscheiden aufgeklärt wurde.

Abb. 1

 HEINRICH HEINE UNIVERSITÄT DÜSSELDORF Universitätsklinikum Düsseldorf Westdeutsche Kieferklinik Poliklinik für Parodontologie · Direktor: Univ.-Prof. Dr. A. Herforth		
Universitätsklinikum Düsseldorf, Anstalt des öffentlichen Rechts, Postfach 101007 D-40001 Düsseldorf		
An die		
Teilnehmer der Studie "Qualitative und Quantitative Beteiligung unspezifischer oraler Chlamydieninfektionen bei Patienten mit Parodontitis marginalis"	Hausanschrift: Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf Telefon: 0211-81-00 Durchwahl: 0211-81-18158 E-Mail: Bork@med.uni-duesseldorf.de	
Datum und Zeichen Ihres Schreibens	Mein Zeichen: Zahnarzt Bork	Datum
Hier : Abteilung für Parodontologie / Prof. Dr. A. Herforth		
<u>Einverständniserklärung</u>		
Name des Patienten :		
Vorname :		
PNr.:		
Geburtsdatum: Geburtsort:		
Hiermit erkläre ich mich einverstanden damit, als Proband an der klinischen Studie zum Thema: "Qualitative und Quantitative Beteiligung unspezifischer oraler Chlamydieninfektionen bei Patienten mit Parodontitis marginalis" teilzunehmen. Im Verlaufe der Studie werden mir Taschenepithelproben entnommen, welche histologisch auf eine etwaige Chlamydieninfektion untersucht werden. Die Gewebeentnahmen stellen keine zusätzliche Gewebeentfernung dar, da dieses Gewebe normalerweise verworfen wird. Des Weiteren sind mindestens zwei venöse Blutentnahmen nötig, die als zusätzliche Behandlungsmaßnahme außerhalb des üblichen Behandlungsablaufes gemacht werden. Mit der Gewebeentnahme und der Blutentnahme erkläre ich mich einverstanden. Ich bin darüber informiert, dass mir durch die Teilnahme an der o.g. Studie keine zusätzlichen Kosten entstehen werden. Durch ein vorzeitiges Ausscheiden aus der Studie (auch ohne Angabe von Gründen) entstehen mir keine Nachteile in der Qualität meiner zahnmedizinischen Versorgung. Über Risiken und Nebenwirkungen bin ich von Zahnarzt M.S. Bork aufgeklärt worden, insbesondere über :		
Düsseldorf, _____ (Unterschrift des Patienten/der Patientin)		_____ (Unterschrift des Aufklärenden)

2.1.2 Formblatt zur Befunderhebung

Das Formblatt zur Befunderhebung sollte zum einen eine sehr umfangreiche Anamneseerhebung sicherstellen und zum anderen eine Übersicht über typische Lebensgewohnheiten der Probanden bzw. Patienten ermöglichen. Zu diesem Zweck wurde eine Familienanamnese (siehe Abb. 2) erhoben, welche sich gezielt auf mit Chlamydieninfektionen assoziierte Erkrankungen [2, 5, 6, 7, 15, 16, 27, 28, 35, 41, 48, 58] der engsten Familienangehörigen richtete.

Weiterhin wurde eine dreißig Fragen beinhaltende allgemeinmedizinische Anamnese (siehe Abb. 2 und 3) des Probanden bzw. Patienten erhoben, um auch eine zufällige Häufung des Auftretens von Parodontitis, allgemeinmedizinischer Erkrankung und Chlamydieninfektion zu registrieren. Zum Abschluss der Anamneseerhebung wurden die Patienten auf ihre Lebensgewohnheiten hin befragt (siehe Abb. 4), wie den Verzehr von Genussmitteln (Nikotin, koffeinhaltige Getränke, Alkohol), Ernährungsgewohnheiten und Mundhygienehäufigkeit bzw. Mundhygienezeitpunkt.

Zur Dokumentation aller oralen Befunde wurden vor Beginn der Behandlung ein Zahnstatus (siehe Abb. 5), ein Parodontalstatus nach üblichem Formblatt (siehe Abb. 7) sowie ein Mundschleimhautbefund (siehe Abb. 6) erhoben. Zur Reproduzierbarkeit der venösen Blutentnahmen wurden diese im Untersuchungsbogen schriftlich fixiert (siehe Abb. 8). Um Befundänderungen während der Therapie zu dokumentieren, wurden die Entzündungs- und Mundhygieneindizes Sulcus Blutungs Index /SBI (siehe Abb.9), Approximalraum Plaque Index /API (siehe Abb. 10), Papillen Blutungs Index (PBI) und Quigley-Hein (QH) erhoben (siehe Abb. 11) und der Parodontalstatus jeweils nach Vorbehandlung, nach konservativ geschlossener Behandlung und sechs Monate nach Ende der Therapie zusätzlich aufgezeichnet (siehe Abb. 6).

Abb. 2

Anamnesebogen

Bitte studieren Sie die folgenden Fragen sorgfältig und beantworten Sie sie möglichst genau. Antworten Sie mit „Ja“ oder „Nein“ oder lassen Sie das betreffende Feld einfach offen, wenn Sie die Frage nicht eindeutig beantworten können.

Familienanamnese :

Gibt oder gab es in Ihrer direkten Verwandtschaft einer der folgenden Erkrankungen?

- | | | |
|--|-------------------------------|-----------------------------|
| 1.) Arthritis, Polyarthritis oder rheumatische Beschwerden ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 2.) Parodontopathien (z.Bsp. Parodontitis, Gingivitis) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 3.) Herz- oder Gefäßerkrankungen (z.Bsp. Herzinfarkt) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 4.) Stoffwechselerkrankungen (z.Bsp. Diabetes mellitus)? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 5.) Blutbildungserkrankungen (z.Bsp. Leukämie) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 6.) Blutgerinnungserkrankungen (z.Bsp. Hämophilie) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |

Bemerkungen zu Frage X :

Allgemeinmedizinische Anamnese:

Haben oder hatten Sie eine der folgenden Erkrankungen?

- | | | |
|--|-------------------------------|-----------------------------|
| 4.) Allergien, Unverträglichkeitsreaktionen ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 5.) Arthritis, Polyarthritis, rheumatische Beschwerden, Reiter-Syndrom ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 6.) Sind Sie schon einmal auf Chlamydien untersucht worden? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 7.) Arterielle Hypertonie (Bluthochdruck: RR syst. > 140 mm Hg) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 8.) Arterielle Hypotonie (niedriger Blutdruck RR syst. < 100 mm Hg) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 9.) Wie hoch war Ihr letzter gemessener Blutdruck? Datum ca. _____ | RR : _____ | mmHg |
| 10.) Diabetes mellitus Typ I (Insulinpflichtiger Diabetes m.) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 11.) Diabetes mellitus Typ II (Insulinunabhängiger Diabetes m.) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 12.) Störungen des Hormonhaushaltes ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 13.) Erkrankungen der Augen (z.Bsp. Trachom, Glaukom) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 14.) Erkrankungen des Bindegewebes ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 15.) Erkrankungen des Blutes oder Blutgefäßsystems ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 16.) Erkrankungen der Haut (z.Bsp. Herpes labiales, Lichen ruber) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 17.) Erkrankungen des Herzens (z.Bsp. KHK, Herzklappenfehler) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 18.) Erkrankungen der Leber oder der Galle ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 19.) Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse (z.Bsp. Pankreatitis) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 20.) Erkrankungen der Lunge (besonders unspezifische Pneumonie) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 21.) Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes (z.Bsp. chron. Gastritis) ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 22.) Erkrankungen der Milz ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 23.) Erkrankungen des Nervensystems ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 24.) Erkrankungen der Niere oder Nebenniere ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 25.) Erkrankungen der Schilddrüse oder Nebenschilddrüse ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 26.) Erkrankungen des Skelettsystems oder der Muskeln ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 27.) Erkrankungen des Uro-Genitaltraktes ? | Nein ☐ | Ja ☐ |
| 28.) Stoffwechselerkrankungen (z.Bsp. Gicht oder Osteoporose) | Nein ☐ | Ja ☐ |

[illegible]

Abb. 4

Zahnstatus vor Therapiebeginn :

Lockerung:																
CPITN																
Sensibilität																
	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Füllungsart:																
GF																
KI																
Am																
GIZ																
CMP																
	Befund vor Beginn der Behandlung R am _____ 19__ O Zahnstein O Beläge L															
Füllungsart:																
Sensibilität:																
CPITN																
Lockerung																

Abb. 5

Mundschleimhautbefund vor Therapie :

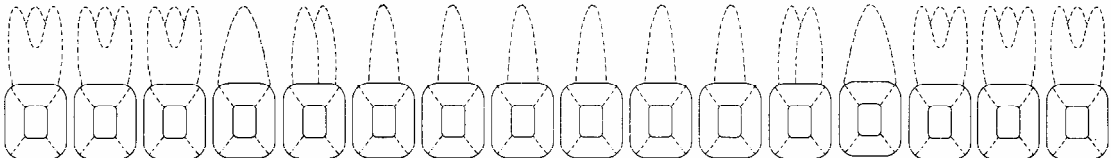
o. B. ☐

Besonderheiten : _____

Abb. 6

Parodontaler Befund nach Vorbehandlung :

Oberkiefer



rechts **links**

Unterkiefer

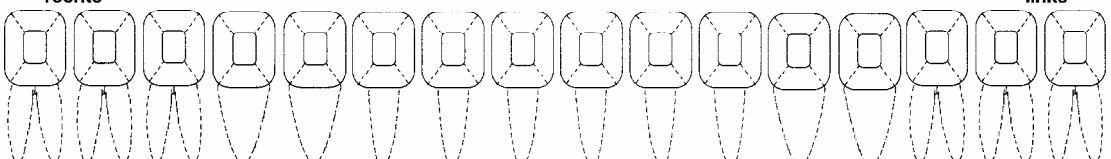


Abb. 7

Blutentnahmen (venös) :
(bei jedem Patienten vor und ein Monat nach Therapie, zusätzlich bei Histologisch „Chlamydien positiven“ Patienten nach Vorbehandlung und unmittelbar nach Therapieende)

Labor : _____ Telefon : _____

1.) Datum : _____ Ergebnis : negativ ☐ positiv ☐ Chlamydia trachomatis IgG ☐
Chlamydia trachomatis IgA ☐
Chlamydia pneumoniae IgG ☐
Chlamydia pneumoniae IgA ☐

2.) Datum : _____ Ergebnis : negativ ☐ positiv ☐ Chlamydia trachomatis IgG ☐
Chlamydia trachomatis IgA ☐
Chlamydia pneumoniae IgG ☐
Chlamydia pneumoniae IgA ☐

3.) Datum : _____ Ergebnis : negativ ☐ positiv ☐ Chlamydia trachomatis IgG ☐
Chlamydia trachomatis IgA ☐
Chlamydia pneumoniae IgG ☐
Chlamydia pneumoniae IgA ☐

4.) Datum : _____ Ergebnis : negativ ☐ positiv ☐ Chlamydia trachomatis IgG ☐
Chlamydia trachomatis IgA ☐
Chlamydia pneumoniae IgG ☐
Chlamydia pneumoniae IgA ☐

Bemerkungen :

Zur Dokumentation der Veränderung der Mundhygiene und des parodontalen Entzündungsbefundes der Patienten wurden zwei Entzündungsindizes (SBI und PBI) und zwei Hygieneindizes (API und Quigley-Hein) erhoben. Der Sulcus-Blutungs-Index (SBI) nach Mühlemann und Son wurde modifiziert nach dem JA/Nein Prinzip von uns erhoben. Dabei werden die Sulci der Zähne ohne Druck mit einer WHO Parodontalsonde ausgestrichen und das Auftreten einer Blutung nach 30 Sekunden dokumentiert (siehe Abb.8). Beim Papillen-Blutungsindex (PBI) nach Mühlemann wird die mesiale und distale Papille eines Zahnes vorsichtig mit einer WHO Parodontalsonde ausgestrichen und das Auftreten einer Blutung differenzierter als beim SBI dokumentiert (siehe Abb. 10). Der Approximalraum – Plaque – Index (API) nach Lange wird durch Anfärben der Zähne mittels einer Färbelösung (Miradent-two-tone[®]) und anschließendem Spülen mit Wasser erhoben, und wird ebenfalls nach dem Ja/Nein Prinzip dokumentiert (siehe Abb. 9). Auch beim Plaque – Index nach Quigley – Hein werden die Zähne mittels Färbelösung angefärbt und anschließend mit Wasser gespült. Die Dokumentation ist jedoch differenzierter (siehe Abb. 11).

Abb. 8 Sulcus Blutungs Index/ SBI

4.	3.	2.	1.	Zahn	Zahn	1.	2.	3.	4.
				18	28				
				17	27				
				16	26				
				15	25				
				14	24				
				13	23				
				12	22				
				11	21				
				41	31				
				42	32				
				43	33				
				44	34				
				45	35				
				46	36				
				47	37				
				48	38				
				Anz.+	Anz.+				

[illegible]

Abb. 11 Quigley-Hein

[illegible]

Immunologie : Gewebeentnahme mittels Gracey - Küretten und Universal – Küretten (Hu-Friedy) Nr.3/4, 5/6, 7/8, 9/10, 11/12, 13/14 (siehe Bild 2).

Bild 2



Daneben wurde ein Eppendorf Reaktionsgefäß mit der Maßeinheit 2 ml verwendet (siehe Bild 3). Die Füllung des Reaktionsgefäßes besteht jeweils aus 1,5 ml Ringerlösung®, 1,5 ml IDEA™ PCE Chlamydia Transport Medium, 2 ml Cobas Amplicor NG/CT Transport Medium sowie einer 1,5 ml isotonen NaCl-Lösung 0,9 %.

Bild 3



2.1.4 Immunologische Untersuchungen

Nachfolgende industriell hergestellte Testverfahren wurden verwendet:

- 1 SeroCP IgM, IgA & IgG ELISA[®] (HAIN Diagnostika GmbH)
- 2 Sero CT IgA & IgG ELISA[®] (HAIN Diagnostika GmbH)
- 3 ClamyGen[®] (HAIN Diagnostika GmbH)
- 4 COBAS Amplicor CT/NG PCR Diagnostics[™] (Roche)
- 5 IDEIA[™] PCE Chlamydia (DAKO Ltd., United Kingdom)

2.2 Methode

2.2.1 Einverständniserklärung

Die Einverständniserklärung wurde vom Patienten vor Therapiebeginn, nach ausführlicher Aufklärung über das Krankheitsbild der Chronischen Parodontitis, Therapie und Studiendesign der durchgeführten klinischen Studie unterschrieben.

2.2.2 Formblatt zur Befunderhebung

Das Formblatt zur Befunderhebung sollte die Befundänderungen vor, während und nach der Therapie dokumentieren. Der anamnestische Teil wurde im Gespräch zwischen Behandler und Patient erhoben, so dass der Patient bzw. der Behandler die Möglichkeit hatte, Fragen zu stellen.

2.2.3 Immunologische Serologie

Bei jedem Patienten wurde vor Behandlungsbeginn eine venöse Blutentnahme aus einer Vene der rechten Ellenbeuge vorgenommen. Dazu wurde mit einem Stauschlauch das venöse Blut des rechten Unterarms ca. eine Minute lang gestaut

und mittels Vacutainersystem ca. 5 ml venöses Blut aus der Vene punktiert. Nach Auflegen eines Drucktupfers wurde die Einstichstelle mit einem Pflaster abgedeckt. Das Pflaster durften die Patienten zu Hause entfernen. Die entnommene Blutprobe wurde in einem Kühlschrank kurzzeitig gelagert und anschließend sofort (am gleichen Tag) zur Untersuchung ins Institut für Mikrobiologie und Virologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf zur Untersuchung auf das Vorliegen von Anti-Chlamydia pneumoniae und trachomatis IgA, IgG Antikörpern gebracht.

2.2.4 Immunologische Gewebeuntersuchungen

Das bei der konservativ geschlossenen Kürettage durch subgingivales scharfes Scaling mittels Gracey- und Universalküretten gewonnene Taschenepithel und Granulationsgewebe wird unmittelbar in die jeweils vorbereiteten Transportmedien durch Abstreichen von den Küretten gegeben. Die Transportmedien werden bis zur immunologischen Untersuchung gekühlt gelagert.

Im Folgenden werden die verschiedenen zur immunologischen Untersuchung der gewonnenen Gewebeproben verwendeten Testverfahren beschrieben. Es handelt sich dabei um drei handelsübliche Testverfahren, welche auf der „ELISA“ (Enzyme-linked-immunosorbent assay) Methode [49] basieren und zwei Testverfahren, die auf der Polymerasekettenreaktion (PCR = polymerase-chain-reaction) [20, 21, 34, 50, 60,62] beruhen.

2.2.4.1 SeroCP IgM, IgA & IgG ELISA®

Sero CP® IgM, IgA & IgG ELISA (Hain Diagnostika GmbH) beinhaltet ein natürliches Antigen, welches zielgerichtet Elementarkörperchen des Chlamydien TW-183 Stammes unter Berücksichtigung der MOMP-Region (Major-Outer-Membrane-Protein=MOMP) aufreinigt. Es reagiert nach dem folgenden Prinzip: Die vom Patienten gewonnenen Gewebeproben werden bei -18°C eingefroren und gekühlt ins Labor transportiert. Im Labor werden diese Proben bei

Raumtemperatur aufgetaut und für den SeroCP-Testablauf vorbereitet. Im weiteren Verlauf wird die Mikropipettierplatte mit aufgereinigtem Chlamydia-Pneumoniae-Antigen beschichtet. Anschließend kommt es zur Bindung von Chlamydia pneumoniae mit einem spezifischen Antikörper aus dem Probenmaterial. Die Chlamydia pneumoniae spezifischen Antikörper binden das Peroxidase-konjugierte Anti-Human IgM, IgA bzw. IgG. Danach inkubiert man das Substrat mit (3,3', 5,5'-Tetramethylbenzidin). Die Reaktion wird gestoppt und bei 450 nm im Photometer gemessen (Referenzfilter 620 nm). Die Untersuchungen mit diesem Testverfahren wurden bei der Firma Hain Diagnostika durchgeführt. Im Folgenden wird der Testablauf genauer dargestellt:

Testablauf

- 1.) Je 50 µl Seren und Kontrollen in Mikropipettierplatte pipettieren,
- 2.) Inkubation für eine Stunde bei 37 °C in feuchter Kammer,
- 3.) Platte mit jeweils 300 µl drei mal waschen,
- 4.) je 50 µl Konjugat zu pipettieren,
- 5.) erneute Inkubation für eine Stunde bei 37°C in feuchter Kammer,
- 6.) Platte mit jeweils 300 µl drei mal waschen,
- 7.) je 100 µl Substrat zu pipettieren,
- 8.) Inkubation für 15 Minuten bei Raumtemperatur,
- 9.) je 100 µl Stopplösung hinzu pipettieren,
- 10.) Photometrieren bei 450 nm / Referenzfilter 620 nm.

2.2.4.2 SeroCT IgA & IgG ELISA®

Sero CT IgA & IgG ELISA® (Hain Diagnostika GmbH) beruht auf den speziesspezifischen Epitopen der vier variablen Domänen der MOMP-Region (Major-Outer-Membrane-Protein) der Chlamydienwand. Das Antigen im SeroCT ist ein synthetisches Peptid, das auf die variablen Domänen der MOMP-Region

zurückgreift. Dabei werden die 15 Serovare von *Chlamydia trachomatis* zu Grunde gelegt. Dieser Test funktioniert nach dem folgenden Prinzip.

Die vom Patienten gewonnenen Gewebeproben werden bei -18°C eingefroren und gekühlt ins Labor transportiert. Im Labor werden diese Proben bei Raumtemperatur aufgetaut und zum SeroCT-Testablauf vorbereitet.

Eine mit *Chlamydia trachomatis* spezifischem, synthetischem Peptid beschichtete Mikropipettierplatte wird zur Bindung der *Chlamydia trachomatis* spezifischer Antikörper aus dem Probenmaterial verwendet. Die *Chlamydia trachomatis* spezifischen Antikörper binden das Peroxidase konjugierte Anti-Human IgA bzw. IgG.

Die Substratinkubation erfolgt mit TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin). Die Reaktion wird gestoppt und bei 450 nm gemessen (Referenzfilter 620 nm). Die Untersuchungen mit diesem Testverfahren wurden bei der Firma Hain Diagnostika durchgeführt.

Im Folgenden wird der Testablauf detaillierter dargestellt:

Testablauf

- 1.) Je 50 μl Seren und Kontrollen in Mikropipettierplatte pipettieren,
- 2.) Inkubation für eine Stunde bei 37°C in feuchter Kammer,
- 3.) Platte dreimal mit jeweils 300 μl waschen,
- 4.) je 50 μl Konjugat zu pipettieren,
- 5.) erneute Inkubation für eine Stunde bei 37°C in feuchter Kammer,
- 6.) Platte dreimal mit jeweils 300 μl waschen,
- 7.) je 100 μl Substrat zu pipettieren,
- 8.) Inkubation für 15 Minuten bei Raumtemperatur,
- 9.) hinzu pipettieren von je 100 μl Stopplösung,
- 10.) Photometrieren bei 450 nm / Referenzfilter 620 nm.

2.2.4.3 ChlamyGen®

ChlamyGen® (Hain Diagnostika GmbH), Chlamydia Antigen-ELISA ist ein Enzymimmunoassay für den qualitativen Nachweis von Chlamydia-Antigen in Probematerial aus der männlichen Harnröhre, aus dem Urin von Männern, aus dem weiblichen Zervixkanal oder aus den Augen. Die Untersuchungen mit diesem Testverfahren wurden bei der Firma Hain Diagnostika nach dem folgenden Prinzip durchgeführt:

Vom Patienten genommene Gewebeproben werden in das mitgelieferte Transportmedium (Eagle-Minimalmedium bestehend aus fetalem Rinderserum, Zucker, Amphotericin B, Streptomycin und Vancomycin) überführt. Nach Aufschütteln, 10-minütigem Kochen und nochmaligem Schütteln wird die entsprechende Menge des Untersuchungsmaterials zusammen mit einem gegen die Lipopolysaccharide (LPS) der Chlamydien gerichteten monoklonalen Antikörper und einem mit Meerrettichperoxidase markierten Anti-Maus-IgG Antikörper in die Vertiefungen eingefüllt. Im Anschluss an die Inkubation werden die Vertiefungen gespült und ein chromogenes Substrat, 3,3'', 5,5''-Tetramethylbenzidin zugesetzt. Die Bildung eines gefärbten Enzymsubstratproduktes über einen Grenzwert hinaus lässt darauf schließen, dass das Untersuchungsmaterial Chlamydien enthält. Der murine monoklonale Antikörper ist Genuss-spezifisch und kann nicht zwischen Chlamydia trachomatis, Chlamydia psittaci und Chlamydia pneumoniae differenzieren. Der Testablauf findet folgendermaßen statt:

Testablauf

- 1.) Testpackung aus dem Kühlschrank nehmen und auf Raumtemperatur bringen,
- 2.) Riegelanzahl entsprechend der Probenzahl wählen und zusätzlich drei Vertiefungen für die Kontrollen vorsehen,
- 3.) Herstellung der Waschlösung in gebrauchsfertiger Konzentration,

- 4.) alle Proben und Kontrollen 15 Sekunden lang mischen,
- 5.) Proben und Kontrollen auf ca. 95°C für 10 Minuten erhitzen,
- 6.) Proben und Kontrollen auf Raumtemperatur (+18-25°C) abkühlen lassen,
- 7.) rotes Peroxidase Konjugat pipettieren (25 µL je Vertiefung),
- 8.) alle Proben und Kontrollen 15 Sekunden lang durchmischen,
- 9.) die abgekühlten Proben und Kontrollen pipettieren (200µl je Vertiefung),
- 10.) blau gefärbte Antikörper pipettieren (50 µl je Vertiefung),
- 11.) Vertiefungen mit neuer Abklebefolie abdichten, zum Mischen seitlich leicht anklopfen und bei 37°C für eine Stunde inkubieren,
- 12.) ca. 10 Minuten vor Bedarf gebrauchsfertiges TMB-Substrat herstellen (unbedingt vor Licht schützen),
- 13.) die Vertiefungen mit gebrauchsfertiger Waschlösung 5x waschen (vor Zugabe des Substrats sicherstellen, dass die Waschlösung gründlich entfernt wurde),
- 14.) in jede Vertiefung gebrauchsfertiges 200 µl TMB-Substrat pipettieren,
- 15.) mit neuer Abklebefolie abdichten, seitlich leicht anklopfen und im Dunklen für 20 Minuten bei 18-25°C inkubieren,
- 16.) die Reaktion durch Zugabe von 50 µl Stopplösung abstoppen (zum Mischen seitlich leicht anklopfen (50 µl je Vertiefung),
- 17.) Nullabgleich des Photometers gegen Luft,
- 18.) Messung und Dokumentierung des Extinktionswertes aller bearbeiteten Vertiefungen innerhalb 2 bis 10 Minuten nach Zugabe der Stopplösung (450nm),
- 19.) Berechnung des Grenzwertes und der Wiederholungsgrenze,
- 20.) Beurteilung des Testprobenstatus.

2.2.4.4 COBAS Amplicor CT/NG PCR Diagnostics™

Cobas Amplicor CT/NG (Roche) ist ein Test, der auf dem Prinzip der PCR (polymerase chain reaction = Polymerasekettenreaktion) beruht und durch enzymatische Vermehrung von DNS innerhalb weniger Stunden aus wenig Probematerial genügend Material für die genetische Analyse der vorliegenden Nukleinsäuresequenzen liefert [23]. Die Untersuchungen mit diesem Testverfahren wurden in der Mikrobiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf (Prof. Dr. Heinz) durchgeführt. Durch die Polymerasekettenreaktion wird die natürliche DNA-Synthese einer bestimmten spezifizierten DNA-Sequenz induziert. Zunächst wird der DNA-Doppelstrang bei mehr als 90°C in zwei sich ergänzende Einzelstränge separiert (Denaturierung). Beim anschließenden Annealing werden bei 50°C bis 62°C zwei sogenannte Primer an die Einzelstränge der DNA mit dem Ziel der Vervielfältigung der charakteristischen Sequenz (100-600 Basenpaare) angelagert. Für die Verlängerung der gewonnenen DNA – Stränge (Extension) wird die Reaktionslösung auf 72°C erhitzt, wobei in der Reaktionslösung die vier DNA – Bausteine (Nukleotide) und ein hitzestabiles Enzym – Taq-DNA-Polymerase – enthalten sind. Das aus dem Bakterium *Thermus aquaticus* isolierte Enzym Taq-DNA-Polymerase katalysiert die Reaktion, wobei die Verlängerung des DNA-Stranges immer in Richtung 5`-3` erfolgt. Nach dem ersten PCR-Zyklus liegen somit zwei DNA-Stränge als Endprodukte vor. Jeder weitere Ablauf eines PCR-Zyklus erhöht anschließend die Anzahl der vorliegenden DNA -Stränge, bis eine ausreichende Anzahl (nach ca. 30-40 Zyklen) spezifischer DNA für die folgende Detektion vorliegt. Vom Patienten gewonnene Gewebeproben werden in das mitgelieferte Transportmedium gegeben und bei – 18°C eingefroren. Folgend kommt es zur Reagenzpräparation im Prä-PCR Bereich und zum Vorbereiten eines PCR-A (Amplifikations)-Ringes mit CT(+) Kontrolle auf dem A-Ring-Halter. Nach der Herstellung des Gebrauchs-MasterMix (GMM) wird durch Zugabe von 100µl CT - IC (*Chlamydia trachomatis* Interne Kontrolle) der Vial CT/NG Master

Mix. Eine Menge von 50µl des GMM werden in jedes PCR-Amplifikationsröhrchen pipettiert (Mikropipetten mit gestopften Spitzen). Bis zum Start der Amplifikation A – Ringe werden diese in einer Plastiktüte im Kühlschrank lagern.

Die Probenvorbereitung im Prä-PCR Bereich besteht zunächst aus der Kontrolle, ob das Kulturtransportmedium die entsprechende Gewebeprobe in aufgetautem Zustand enthält. Anschließend wird von 100µl CT Lysepuffer in ein 2ml Sarstedtschraubverschlussröhrchen pipettiert. Eine Menge von 100µl der Probe wird in ein Kulturtransportmedium gegeben und vorgetextet. Diese werden bei Raumtemperatur für 10 Minuten inkubiert. Schließlich werden 200µl Probendiluent hinzupipettiert. Es kommt zu einem erneuten zehninütigen Inkubieren bei Raumtemperatur mit anschließendem Vortexen.

Zur Herstellung der prozessierten Kontrolle (ProzessierteCT(+)) Kulturtransportmediumkontrolle) werden von 100µl Kulturtransportmedium in ein 2ml Sarstedtröhrchen pipettiert, 100µl CT Lysepuffer zugegeben und 200µl Gebrauchs CT(+) Kontrolle mit vorgetextet. Anschließend wird bei Raumtemperatur für 10 Minuten inkubiert. 50 µl der aufbereiteten Kontrollen und Patientenproben werden zu den vorbereiteten PCR-Amplifikationsröhrchen (A-Tubes) mittels einer Mikropipette mit gestopfter Spitze hinzu pipettiert und die A Tubes verschlossen. Die Proben im A – Ring werden anschließend in den Post-PCR-Bereich des COBAS AMPLICOR gebracht, wo es zur Amplifikation und Detektion (Post-PCR Bereich) kommt. Der A – Ring wird in den Thermocycler des COBAS AMPLICOR eingebracht und eine Arbeitsliste erstellt. Alle weiteren Abläufe werden vom COBAS AMPLICOR automatisch durchgeführt. Als Ergebniskontrolle (Tab. 1) kann man bei jedem Testablauf prüfen, ob gültige Werte für positive und negative Kontrollen bei 660 nm vorliegen.

Tab. 1

CT Resultat		IC Resultat		Interpretation
OD 660nm	Kommentar	OD 660nm	Kommentar	
$\geq 0,8$	Positiv	Jedes		Probe ist positiv für CT Unabhängig vom Resultat für die Interne Kontrolle
$< 0,2$	Negativ	$\geq 0,2$	Positiv	Probe ist negativ für CT
$< 0,2$	Negativ	$< 0,2$	Negativ	Ungültiges Testresultat Aufarbeitung eines neuen Aliquots der Patientenprobe
$\geq 0,2 < 0,8$	GZ 0,2-0,8	Jedes	Unbestimmt	Unbestimmtes Testresultat Test mit verarbeiteter Probe im Doppel wiederholen

Die Probe muss noch zweimal von der prozessierten Probe wiederholt werden (Amplifikation und Detektion). Wenn zwei der drei Resultate $\geq 0,2$ ist, kann die Probe positiv bewertet werden und sollten zwei der der Resultate $< 0,2$ (IC $\geq 0,2$) sein, so ist die Probe vorläufig negativ.

2.2.4.5 IDEIA™ PCE Chlamydia

IDEIA™ PCE Chlamydia Blocking Reagents

Bei dem vorliegenden Test mit zweifacher Amplifikationstechnologie im Mikrotiterplattenformat handelt es sich um den IDEIA™ PCE Chlamydia (Firma DAKO Ltd., United Kingdom). Er ist konzipiert für die Diagnostik urogenitaler Infektionen durch urethralen oder endocervikalen Abstrich und Urinproben.

Durch eine selektive Bindung des Antigens durch monoklonale Chlamydien-spezifische Antikörper kommt es zur Markierung des Antigens mit alkalischer Phosphatase und damit gelingt ein enzymatischer Nachweis.

Polymer-Konjugat-Verstärkung (PCE, Polymer Conjugate Enhancement):

Aus einem Dextrangerüst, an das zahlreiche Moleküle alkalischer Phosphatase und die Antikörper kovalent gebunden sind, besteht das Polymer-Konjugat. Durch diese Gestaltung des Polymer-Konjugats wird die Bildung von NADH aus NADPH wesentlich beschleunigt, was zu einer deutlichen Steigerung der Sensitivität führt. Das NADH katalysiert eine zyklische, enzymatische Reaktion, die das farbige Endprodukt (Formazan) bildet. Dieses kann nach Zugabe einer Stopplösung spektrophotometrisch oder visuell bestimmt werden. Genusspezifischer Nachweis von Chlamydia-Antigen, nachgewiesen werden das Major Outer Membrane Proteine (MOMP) und Lipopolysaccharide (LPS) als Chlamydien-spezifische Anteile. Test gilt erst dann als positiv wenn ein geforderter Schwellenwert eine ausreichend hohe Konzentration an Antigen signalisiert. Ein falsch-positives Testergebnis wird durch den Einsatz des IDEIA™ PCE Chlamydia Blocking Reagents (Firma DAKO Ltd.) verhindert, indem mit zwei Kontrollreagenzien jede positive Probe erneut getestet wird. Die Untersuchungen mit diesem Testverfahren wurden im St. Josef-Krankenhaus, Abteilung für Andrologie, Prof. Dr. Hirschhäuser, Hilden durchgeführt.

Testdurchführung :

Herstellung des gebrauchsfertigen Transportmediums:

Das als Konzentrat gelieferte Transportmedium muss vor dem Verdünnen gründlich gemischt und anschließend verdünnt werden. Auf ein Teil Transportmedium mischt man neun Teile frisches deionisiertes oder destilliertes Wasser und füllt jeweils 1 ml des gebrauchsfertigen Transportmediums in ein Eppendorf-Röhrchen mit Verschlusskappe. Anschließend werden die gebrauchsfertigen Röhrchen bei 15-30 °C gelagert.

Nach Probenentnahme vom Patienten und Einfüllen des zu untersuchenden Gewebes in das Transportmedium läuft die mikrobiologische Untersuchung wie folgt ab:

- 1.) Zugabe von 200 µl Probe oder Kontrolle,
- 2.) Zugabe von 50 µl oder 2 Tropfen Konjugat Reagenz 4,
- 3.) Inkubieren bei 15-30 °C auf dem Schüttler für 90 Minuten,
- 4.) Waschen in 4 Zyklen,
- 5.) Zugabe von 100 µl oder 2 Tropfen Amplifier A, Reagenz 6,
- 6.) Zugabe von 100 µl oder 2 Tropfen Amplifier B, Reagenz 7,
- 7.) Inkubieren bei 15-30 °C auf dem Schüttler für 30 Minuten,
- 8.) Zugabe von 100 µl oder 2 Tropfen Stopplösung,
- 9.) Photometrische Auswertung (Absorptionsmessung bei 490 nm).

Tab 2 Photometrische Auswertung und Interpretation der Testergebnisse

Ergebnis	Interpretation	Empfehlung für die Weiterleitung der Testergebnisse
$O.D. > CO + 0,015$	Positiv *	Vermutliches Chlamydia-LPS-Antigen (kein Blockierungstest durchgeführt)
$O.D. = CO \pm 0,015$	Grenzwertig *	Beurteilung nicht möglich. Testwiederholung
$O.D. < CO - 0,015$	Negativ	Kein Chlamydia-LPS-Antigen nachweisbar

O.D. Optische Dichte (Absorptionseinheiten)

CO Cut-off = Mittelwert der Negativkontrollen + 0,05 Absorptionseinheiten

* Positive und grenzwertige Ergebnisse müssen verifiziert werden

Ist die gemessene Optische Dichte höher als der Cut-off plus 0,015 wird ein Chlamydia-LPS-Antigen vermutet und der Test wird positiv interpretiert. Bei Gleichheit von O.D. und CO plus 0,015 muss der Test wiederholt werden. Ist die O.D. kleiner als der CO plus 0,015 ist kein Chlamydia-LPS-Antigen nachzuweisen.

3. Ergebnisse

3.1 Auswertung des Anamnesebogens

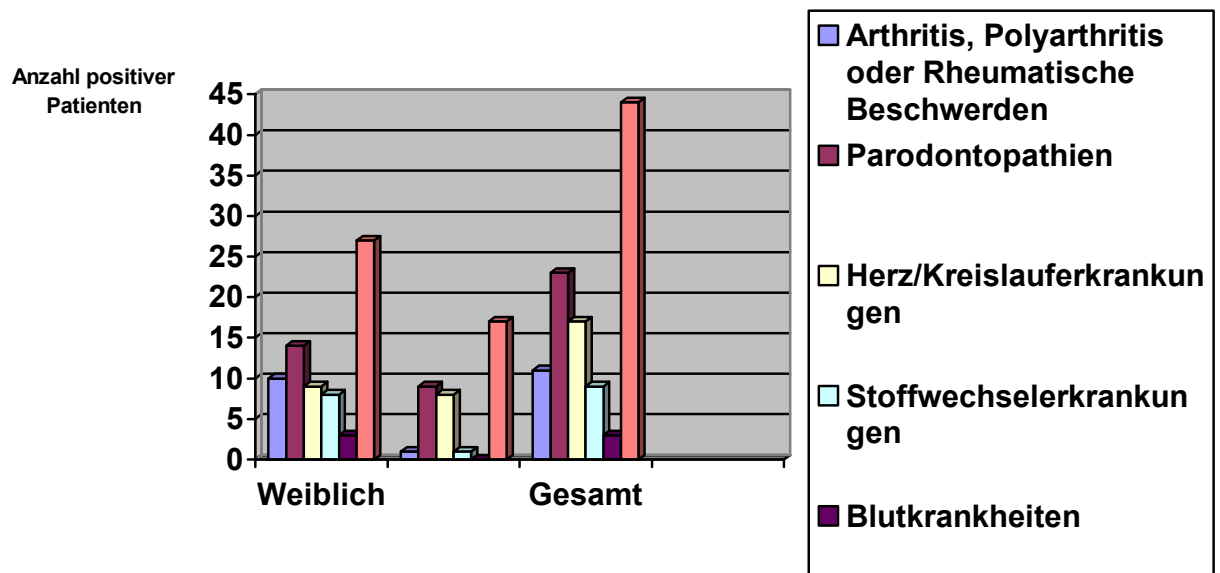
3.1.1 Familienanamnese

Die 44 Probanden sollten im Formblatt zur Befunderhebung angeben, ob eine oder mehrere der angegebenen Erkrankungen in ihrer direkten Verwandtschaft vorliegt oder vorgelegen haben. Die Häufigkeiten der familiären Vorerkrankungen sind der nachfolgenden Tabelle 3 und Diagramm 1 zu entnehmen.

Tab. 3

Art der Erkrankung	Anzahl männlicher Probanden von 17	Anzahl weiblicher Probanden von 27	Anzahl Probanden gesamt von 44
Arthritis, Polyarthritis oder Rheumatische Beschwerden	1	10	11
Parodontopathien (Gingivitis, Parodontitis)	9	14	23
Herzerkrankungen oder Gefäßerkrankungen	8	9	17
Stoffwechselerkrankungen (Bsp: Diabetes mellitus)	1	8	9
Blutbildungserkrankungen (Bsp : Leukämie)	0	2	2
Blutgerinnungserkrankungen (Bsp : Hämophilie)	0	1	1

Diagramm 1



3.1.2 Allgemeinmedizinische Anamnese

Die 44 Probanden sollten im Formblatt zur Befunderhebung angeben, ob eine oder mehrere der angegebenen Erkrankungen bei ihnen selbst vorliegt oder vorlagen. Die Häufigkeiten des Auftretens der einzelnen Erkrankungen sind der folgenden Tabelle 4 zu entnehmen.

Tab. 4

Art der Erkrankung	Anzahl Probanden männlich von gesamt 17	Anzahl Probanden weiblich von gesamt 27	Anzahl Probanden gesamt von 44
Allergien, Unverträglichkeiten	7	17	24
Arthritis, Polyarthritis, rheumatische Beschwerden	2	7	9
Arterielle Hypertonie	6	4	10
Arterielle Hypotonie	4	8	18
Diabetes mellitus Typ 1 / 2	0	0	0
Störungen des Hormonhaushaltes	1	9	10
Erkrankungen der Augen	3	7	10
Erkrankungen des Blutes oder Blutgefäßsystems	3	7	10
Erkrankungen der Haut	3	5	8
Erkrankungen des Herzens	3	3	6
Erkrankungen der Leber oder der Galle	1	3	4
Erkrankungen der Bauchspeicheldrüse	1	1	2
Erkrankungen der Lunge	2	3	5
Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes	3	5	8
Erkrankungen der HNO	4	4	8
Erkrankungen des Nervensystems	1	0	1
Erkrankungen der Niere oder Nebenniere	1	0	1

Erkrankungen der Schilddrüse	2	8	10
Erkrankungen des Skelettsystems	2	4	6
Erkrankungen des Urogenitaltraktes	1	1	2
Stoffwechselerkrankungen	0	1	1
Hepatitis A, B oder C	1	0	1
Tuberkulose	0	1	1
HIV (AIDS)	0	0	0

3.1.3 Allgemeine Anamnese

Die 44 Probanden wurden im Formblatt zur Befunderhebung nach dem Konsum von Genussmitteln, Hobbys, Mundhygienefrequenz und Ernährungseinstellung befragt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 5 zusammengefasst.

Tab. 5

	Anzahl männlicher Probanden von gesamt 17	Anzahl weiblicher Probanden von gesamt 27	Anzahl Probanden gesamt von 44
Raucher	11	9	20
Kaffee/Colakonsument	15	20	35
Alkoholkonsumenten	8	7	15
Stress	7	14	21
Gesunde Ernährung	12	24	36
Sporttreibende	3	19	22

Von den 11 männlichen Rauchern wurden durchschnittlich 24 Zigaretten pro Tag geraucht, von den 9 weiblichen Probanden durchschnittlich 16 Zigaretten pro Tag. 43 der teilnehmenden Probanden reinigten ihre Zähne grundsätzlich immer nach den Mahlzeiten, ein männlicher Proband immer vor den Mahlzeiten. 30 Teilnehmer putzen zweimal täglich ihre Zähne, 10 Teilnehmer geben an die Zähne dreimal täglich zu reinigen. 3 Teilnehmer putzen ihre Zähne nur einmal täglich und ein Teilnehmer gab an viermal täglich seine Zähne zu putzen. Angaben über die Mengen des konsumierten Alkohols machten die 15 Probanden nicht.

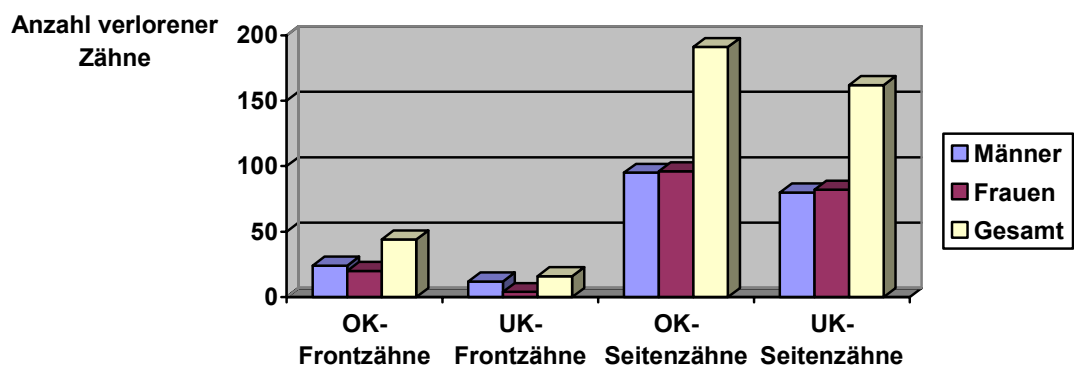
3.2 Auswertung des Zahnstatus vor Therapiebeginn

Insgesamt wiesen die 44 Patienten 995 Zähne auf, wobei jeder Proband durchschnittlich 23 Zähne im Munde hatte. Sowohl Männer als auch Frauen hatten besonders im Seitenzahnbereich (Prämolaren und Molaren) Zähne verloren, wobei es keinen nennenswerten Unterschied zwischen den beiden Geschlechtern gab. Beim Verlust der Frontzähne waren die weiblichen Probanden sowohl im Oberkiefer als auch im Unterkiefer deutlich seltener betroffen als die männlichen Probanden (siehe Diagramm 2). Über die Lokalisation und den Befund der einzelnen Zähne geben die folgenden beiden Tabellen 6 und 7 sowie Diagramm 2 einen Überblick:

Tab. 6

Lokalisation der vorhandenen Zähne	Männliche Probanden	Weibliche Probanden	Gesamte Probanden
Anzahl vorhandener Frontzähne im OK	78	142	220
Anzahl vorhandener Seitenzähne im OK	75	174	249
Anzahl vorhandener Frontzähne im UK	90	158	248
Anzahl vorhandener Seitenzähne im UK	90	188	278
Anzahl vorhandener Frontzähne gesamt	168	300	468
Anzahl vorhandener Seitenzähne gesamt	165	362	527

Diagramm 2



OK-Frontzähne: Zähne 13 bis 23

UK-Frontzähne: Zähne 33 bis 43

OK-Seitenzähne: Zähne 18 bis 14 und 24 bis 28

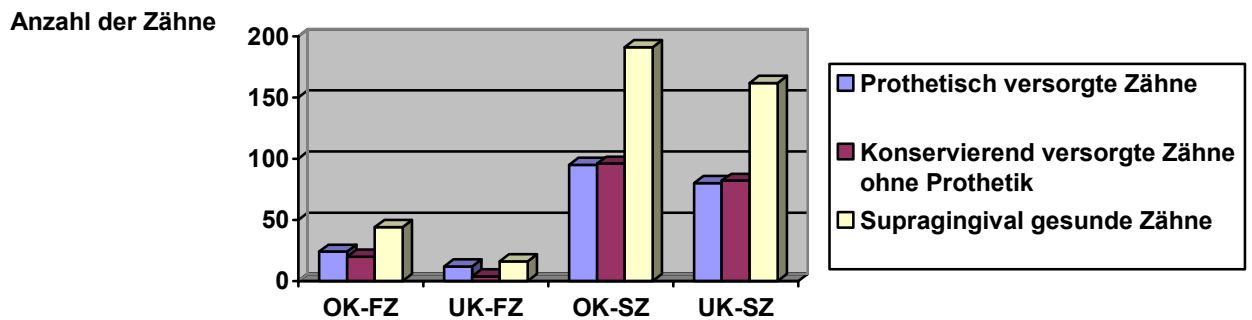
UK-Seitenzähne: Zähne 38 bis 34 und 44 bis 48

Tab. 7

Befund der Zähne	Männliche Probanden	Weibliche Probanden	Gesamte Probanden
Anzahl vorhandener Kronen in OK Front	27	52	79
Anzahl vorhandener Kronen in OK-Seite	28	53	81
Anzahl vorhandener Kronen in UK Front	13	15	28
Anzahl vorhandener Kronen in UK-Seite	25	57	82
Anzahl konservierend gefüllter Zähne im OK – Frontzahnbereich	10	40	50
Anzahl konservierend gefüllter Zähne im OK – Seitenzahnbereich	24	92	116
Anzahl konservierend gefüllter Zähne im UK - Frontzahnbereich	03	18	21
Anzahl konservierend gefüllter Zähne im UK - Seitenzahnbereich	35	73	108
Anzahl wurzelgefüllter Zähne in OK Front	06	17	23
Anzahl wurzelgefüllter Zähne in OK-Seite	04	15	19
Anzahl wurzelgefüllter Zähne in UK Front	01	04	05
Anzahl wurzelgefüllter Zähne in UK-Seite	04	12	16
Anzahl kariöser Zähne im Oberkiefer	21	43	64
Anzahl kariöser Zähne im Unterkiefer	12	31	43

Diagramm 3

Gegenüberstellung bereits prothetisch oder konservierend behandelter Zähne und vorhandenen supragingival gesunden Zähnen



OK-FZ: Oberkieferfrontzähne 13 bis 23

UK-FZ: Unterkieferfrontzähne 33 bis 43

OK-SZ: Oberkieferseitenzähne 18 bis 14 und 24 bis 28

UK-SZ: Unterkieferseitenzähne 38 bis 34 und 44 bis 48

3.3 Auswertung des Mundschleimhautbefundes vor Therapiebeginn

Es wurden keine pathologischen Mundschleimhautbefunde bei den 44 Probanden diagnostiziert.

3.4 Auswertung des parodontologischen Befundes vor Therapiebeginn

Die Anzahl der parodontal erkrankten Zähne sind den beiden nachfolgenden Tabellen zu entnehmen, wobei sowohl bei Männern als auch bei Frauen die Frontzähne in Ober- und Unterkiefer besonders häufig betroffen waren. Insgesamt waren 870 der vorhandenen 995 Zähne der 44 Probanden erkrankt und

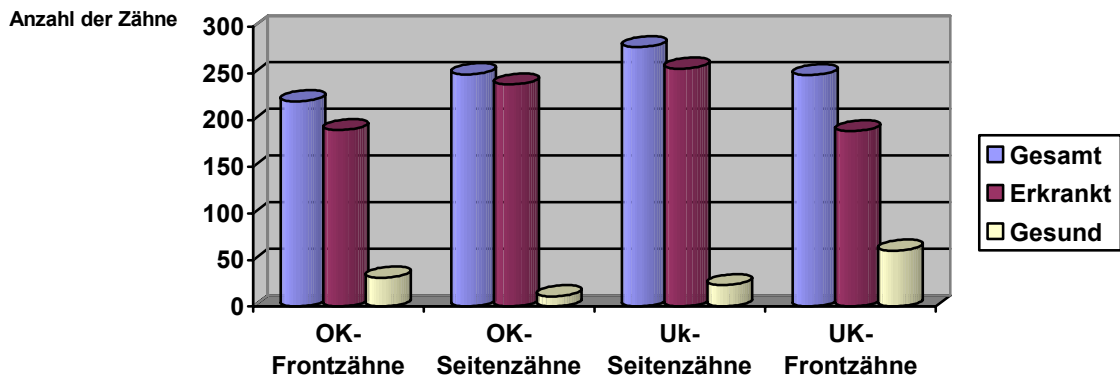
therapiebedürftig. Dies entspricht 87,4 % aller vorhandenen Zähne, wobei die Seitenzähne auffällig häufiger betroffen waren (OK: 96,5 %, UK: 91,7 %) als die Frontzähne (OK: 85,9 %, UK: 75,8 %) (siehe Diagramm 4), was auf Grund der häufig bei der Mundhygiene vernachlässigten Aufmerksamkeit für die Seitenzähne plausibel ist, da hier häufig vom Patienten schnell und wenig gründlich geputzt wird, da die Seitenzähne in der Regel von Außen für Andere weniger sichtbar sind und auch der Patient sie nach der Zahnreinigung nicht gründlich betrachtet. Obwohl in der Regel Zahnstein an den lingualen Flächen der Unterkieferfrontzähne gefunden wird, war diese Gruppe quantitativ am wenigsten betroffen.

Tab. 8

Parodontal erkrankte Zähne	OK rechts (14 – 18)	OK Front (13– 23)	OK links (24–28)	UK rechts (34 – 38)	UK Front (33 – 43)	UK links (44 – 48)
Männer	37	72	32	37	84	46
Frauen	86	117	83	91	104	81
Gesamte Probanden	123	189	115	128	188	127

Diagramm 4

Verteilung parodontal erkrankter Zähne und parodontal gesunder Zähne und der gesamten Anzahl vorhandener Zähne



OK-Frontzähne: 13 bis 23

OK-Seitenzähne: 18 bis 14 und 24 bis 28

Uk-Seitenzähne: 38 bis 34 und 44 bis 48

Insgesamt lag bei 69 Zähnen eine Furkationsbeteiligung der betroffenen Seitenzähne vor, wobei Ober- und Unterkiefer als auch das jeweilige Geschlecht gleich häufig betroffen war.

3.5 Entwicklung der parodontalen Befunde

Die Entwicklung der parodontalen Befunde werden unterteilt in vor, während und nach der Therapie. Um einen Durchschnittswert für die einzelnen Zähne zu ermitteln, wurden die in den jeweiligen Kontrollen gemessenen Werte für den jeweiligen Zahn addiert und anschließend durch die Anzahl der kontrollierten Zähne dividiert (Tab. 9;10, 11).

Im Oberkiefermolarenbereich wurde ein Rückgang der Sondierungstiefen von 1,01 bis 1,69 mm und bei den Oberkiefer Praemolaren von 0,94 bis 1,5 mm nach Abschluss der Therapie registriert. Im Unterkiefermolarenbereich viel das Ergebnis mit 0,4 bis 1,49

mm etwas niedriger aus, ebenso wie bei den Unterkiefer Praemolaren mit 1,15 bis 1,36 mm. Bei den Frontzähnen wurde im Oberkiefer eine Verbesserung der Sondierungstiefen um 1,14 bis 1,57 mm und im Unterkiefer um 1,21 bis 1,40 mm nach Abschluss der konservativ geschlossenen Parodontaltherapie registriert. Das Ergebnis ist insgesamt als Behandlungserfolg zu bewerten.

Tab. 9

Entwicklung der durchschnittlichen Sondierungstiefen pro Zahn der gesamten Teilnehmer der Studie in mm :

Zahn :	Ausgangsbefund	Nach Vorbehandlung	Nach Hauptbehandlung	6 Monate danach
18	5,04	5,20	3,95	3,92
17	4,64	4,44	3,76	3,63
16	4,56	4,36	3,78	3,25
15	3,89	3,94	3,02	2,95
14	3,82	3,61	3,24	2,48
13	3,67	3,82	3,02	2,53
12	3,55	3,52	2,63	2,03
11	3,67	3,48	2,82	2,10
21	3,67	3,43	3,08	2,31
22	3,65	3,67	2,94	2,10
23	3,69	3,61	2,83	2,21
24	3,82	3,97	3,09	2,52
25	3,92	4,01	3,15	2,42
26	4,46	3,95	3,13	2,77
27	4,31	4,29	3,56	2,71
28	5,64	5,44	4,74	4,23
38	3,87	3,43	3,13	3,46
37	4,07	4,38	3,46	3,15
36	3,78	3,90	3,02	2,77
35	3,50	3,35	2,75	2,32
34	3,50	3,26	2,52	2,14
33	3,43	3,16	2,57	2,05
32	3,35	3,06	2,50	1,95
31	3,22	2,80	2,41	1,84
41	3,24	2,70	2,33	1,93
42	3,37	3,06	2,63	2,16
43	3,53	3,19	2,74	2,17
44	3,55	3,53	2,91	2,19
45	3,55	3,43	2,95	2,40
46	4,24	4,19	3,43	3,19
47	4,27	4,19	3,35	3,13
48	5,20	4,50	4,25	3,71

Tab. 10

Entwicklung der durchschnittlichen Sondierungstiefen der Männer während der Studie in mm :

Zahn :	Ausgangsbefund	Nach Vorbehandlung	Nach Hauptbeh.	6 Monate danach :
18	5,25	5,0	3,75	3,83
17	4,75	4,45	3,67	3,87
16	4,75	5,0	3,87	3,56
15	4,15	4,54	3,55	3,58
14	3,90	3,25	2,87	2,67
13	3,82	3,81	2,84	2,90
12	3,72	4,04	3,08	2,15
11	4,08	4,41	3,33	2,25
21	3,77	3,56	3,43	2,42
22	3,75	3,75	3,00	2,13
23	3,62	3,36	2,75	2,00
24	3,67	3,83	3,00	2,25
25	3,72	4,65	3,47	2,50
26	4,67	4,31	3,04	2,56
27	5,0	4,75	4,00	3,63
28	6,5	6,0	5,5	4,53
38	3,58	3,42	3,13	2,75
37	4,18	4,86	3,38	3,19
36	3,9	4,25	3,00	3,00
35	3,5	3,83	2,67	2,30
34	3,58	3,09	2,69	2,36
33	3,57	3,11	2,53	2,00
32	3,5	3,28	2,64	2,00
31	3,23	3,39	2,81	2,00
41	3,46	3,07	2,59	2,00
42	3,14	3,28	2,81	2,29
43	3,73	3,61	2,89	2,04
44	3,35	3,36	3,06	2,30
45	3,73	3,41	2,79	2,00
46	4,36	4,85	3,71	3,42
47	4,86	4,92	3,35	3,25
48	4,75	4,83	4,25	3,50

Tab. 11

Entwicklung der durchschnittlichen Sondierungstiefen der Frauen während der Studie in mm :

Zahn :	Ausgangsbefund	Nach Vorbehandlung	Nach Hauptbehandlung	6 Monate danach
18	4,83	5,25	4,00	4,00
17	4,58	4,44	3,81	3,54
16	4,47	4,07	3,73	3,15
15	3,76	3,68	2,87	2,79
14	3,78	3,68	3,10	2,44
13	3,58	3,83	3,09	2,39
12	3,48	3,28	2,47	2,00
11	3,40	2,98	2,56	2,04
21	3,62	3,35	2,94	2,25
22	3,60	3,63	2,91	2,08
23	3,73	3,75	2,86	2,30
24	3,88	4,04	3,13	2,62
25	4,00	3,80	3,23	2,39
26	4,39	3,83	3,43	2,84
27	4,15	4,21	3,42	2,73
28	5,50	4,88	3,97	3,92
38	4,06	3,44	3,13	3,58
37	4,00	4,12	3,48	3,14
36	3,73	3,83	3,02	2,72
35	3,50	3,14	2,78	2,33
34	3,46	3,35	2,45	2,02
33	3,33	3,19	2,58	2,09
32	3,28	2,94	2,43	1,89
31	3,22	2,47	2,22	1,67
41	3,09	2,54	2,21	1,86
42	3,50	2,94	2,54	2,10
43	3,43	2,95	2,68	2,23
44	3,64	3,61	2,84	2,07
45	3,45	3,68	3,00	2,79
46	4,19	3,89	3,30	2,96
47	4,10	4,05	3,35	3,00
48	5,31	4,44	4,25	3,92

3.6 Entwicklung der Entzündungs- und Mundhygieneindices

Erhoben wurden bei jedem Patienten mindestens dreimal je zwei Mundhygieneindices (API, QH) und je zwei Entzündungsindizes (SBI, PBI), welche zur Beurteilung einer vorliegenden Verbesserung der Mundhygiene der Probanden herangezogen wurden. Eine Übersicht über die Entwicklung der Entzündungs- und Mundhygieneindices geben die nachfolgenden Tabellen (Tab. 12, 13, 14).

Tab. 12 Übersicht über die Entwicklung der Entzündungs- und Mundhygieneindices bei weiblichen Probanden

Index	1.Messung	2.Messung	3.Messung	4.Messung
SBI	37,6 %	31,42 %	32,8 %	30,5 %
API	72 %	42,77 %	48,6 %	45,6 %
PBI	0,89	0,58	0,77	0,64
QH	1,56	0,85	0,65	0,65

Tab. 13 Übersicht über die Entwicklung der Entzündungs- und Mundhygieneindices bei männlichen Probanden

Index	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung
SBI	46,38 %	21,75 %	27 %	23,5 %
API	68,6 %	56 %	46,6 %	40 %
PBI	0,83	0,57	0,50	0,57
QH	1,52	0,91	0,78	0,98

Tab. 14 Übersicht über die Entwicklung der Entzündungs- und Mundhygieneindizes beim gesamten Probandengut (Männer und Frauen)

Index	1. Messung	2. Messung	3. Messung	4. Messung
SBI	40,65 %	27,55 %	29,9 %	27 %
API	70,83 %	47,86 %	47,6 %	42,8 %
PBI	0,87	0,57	0,63	0,605
QH	1,54	0,88	0,72	0,815

Bei allen Probanden trat während der Therapie eine deutliche Verbesserung der Mundhygiene auf, welche die Probanden auch nach Abschluss der Therapie halten konnten, obwohl sich bei der dritten Messung eine geringfügige Verschlechterung beim SBI und PBI des parodontalen Entzündungsbefundes ergab.

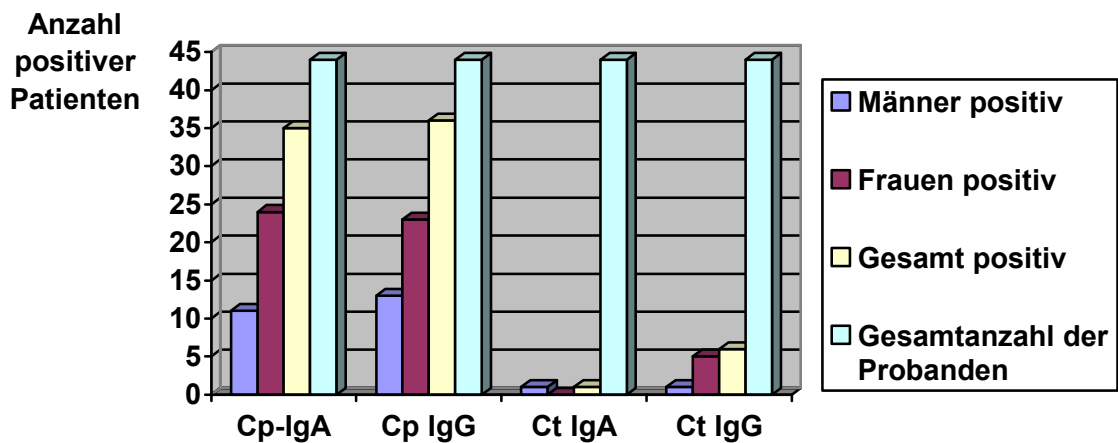
3.7 Ergebnisse der Serologie

Bei jedem Patienten wurde eine venöse Blutprobe entnommen und auf Antikörper gegen *Chlamydia pneumoniae* und *Chlamydia trachomatis* untersucht. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 15 und Diagramm 5 dargestellt:

Tab. 15

Positive Serologie auf	Männer von 17	Frauen von 27	Gesamt von 44
Anti- <i>Chlamydia pneumoniae</i> IgA-AK	11	24	35
Anti- <i>Chlamydia pneumoniae</i> IgG-AK	13	23	36
Anti- <i>Chlamydia trachomatis</i> IgA-AK	01	00	01
Anti- <i>Chlamydia trachomatis</i> IgG-AK	01	05	06

Diagramm 5 Verhältnis serologisch positiver Probanden zu serologisch negativen Probanden unterteilt nach Geschlecht



Cp-IgA: Positive Serologie auf Anti-Chlamydia pneumoniae IgA-Antikörper

Cp-IgG : Positive Serologie auf Anti-Chlamydia pneumoniae IgG-Antikörper

Ct-IgA : Positive Serologie auf Anti-Chlamydia trachomatis IgA-Antikörper

Ct-IgG: Positive Serologie auf Anti-Chlamydia trachomatis IgG-Antikörper

3.8 Ergebnisse der Immunologischen Gewebeuntersuchungen

Das während der konservativ geschlossenen Parodontalbehandlung entnommene Gewebe wurde immunologisch mit fünf Testverfahren an drei unterschiedlichen Orten untersucht.

1.) DAKO – IDEA™ PCE Chlamydia® (PCR-Test)

Es konnte kein positiver Befund nachgewiesen werden. Die Extinktionswerte der untersuchten Proben lagen zwischen 0,325 und 0,571, wobei ein 100%positiv Extinktionswert von 2,193 bestimmt wurde. Der Leerwert wurde mit 0,320

bestimmt. Bei drei Proben waren die Extinktionswerte im ersten Durchlauf zunächst erhöht (2,3 bzw. 2,7). Nach dem Durchlauf des Blocking-Reagents sank jedoch auch hier die Extinktion unter den Positivwert.

2.) SeroCP[®] der Firma Hain Diagnostika (ELISA-Test)

Von der Firma Hain Diagnostika wurden leider keine genauen detaillierten Ergebnisse mitgeteilt. Es wurde lediglich übermittelt, dass keine Probe positiv war.

3.) Sero CT[®] der Firma Hain Diagnostika (ELISA-Test).

Von der Firma Hain Diagnostika wurden leider keine genauen detaillierten Ergebnisse mitgeteilt. Es wurde lediglich übermittelt, dass keine Probe positiv war.

4.) Cobas Amplicor[™] der Firma Roche (PCR-Test)

Die mit dem Cobas Amplicor untersuchten Proben lagen mit 0,003 – 0,007 deutlich unter dem Positivwert von 3,781 und waren damit alle negativ.

5.) ChlamyGen[®] der Firma Hain Diagnostika (ELISA-Test)

Von der Firma Hain Diagnostika wurden leider keine genauen detaillierten Ergebnisse mitgeteilt. Es wurde lediglich übermittelt, dass keine Probe positiv war.

4. Diskussion

4.1. Diskussion der Diagnostik

Die Chlamydiendiagnostik ist mit einer Vielzahl verschiedener moderner mikrobiologischer Untersuchungsverfahren möglich, welche in der heutigen Zeit bei gleicher Spezifität eine deutlich höhere Sensitivität im Vergleich zu den älteren Untersuchungsmethoden wie der direkte histozytologische Nachweis mittels Färbung nach Giemsa, Färbung nach Gimenez bzw. Castaneda, oder MCCoy-Zellkulturen und Anzüchtung von Chlamydien im Dottersack von Hühnerembryos haben [39]. Heute verwendete Untersuchungsverfahren in der Chlamydiendiagnostik sind unter anderem: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) [39, 49], Enzyme Immuno Assay (EIA) [8, 25, 39, 59], Optical Immuno Assay (OIA) [55], Leucocyte Esterase Tests [19], In-situ-Hybridisation [9, 59], Polymerase Chain Reaction (PCR) [20, 21, 34, 50, 59, 60, 63], Ligase Chain Reaction (LCR) [1, 17], RNA-Amplifikation [46], Transcription-mediated Amplification [51], Strand Displacement Amplification (SDA) [57] und ELISPOT, als Nachweis der Antikörperproduktion auf zellulärer Ebene [22]. An der Anzahl der möglichen mikrobiologischen Untersuchungsverfahren wird deutlich dass sich kein Untersuchungsverfahren als das Beste und Eindeutigste durchsetzen konnte [11, 38, 56], da es gerade in der Chlamydienforschung stark auf die äußeren Einflüsse des Untersuchungsverfahrens ankommt, wie zum Beispiel die Art und Weise des Untersuchungsmaterials, die Technik der Probenentnahme, die Kostenrelation sowie die Spezifität und Sensitivität. Als eindeutiger diagnostischer Nachweis gilt bis heute der „Gold-Standard“, eine Methode der Anzüchtung in Zellkulturen [33, 37]. Auf Grund der für Einflüsse von außen sehr anfälligen und kostenintensiven Verfahrens, wurde es in der hier vorliegenden Arbeit nicht verwendet. Auch die Anzüchtung von Chlamydien in Zellkulturen (wie McCoy-Zellkulturen) ist bis heute äußerst schwierig und extrem anfällig für Einflüsse von Außen wie zum Beispiel

Temperatur und/oder Luftschwankungen. Sollte das Anzüchten gelingen liegt ein eindeutig positiver Befund vor. Bei allen anderen Testverfahren besteht die Gefahr des Vorliegens falsch positiver Ergebnisse durch den Nachweis inaktiver Zellbestandteile bzw. es wird lediglich das Vorliegen der genuspezifischen Bestandteile der äußeren Zellmembran (MOMP-**M**ajor-**O**uter-**M**embrane-**P**rotein und LPS-**L**ipopolysaccharide) nachgewiesen, was nicht bedeutet, das wirklich Chlamydien am Entnahmeort der Probe gefunden wurden. Aus diesen Schilderungen lässt sich bereits die Problematik der sicheren Chlamydiendiagnostik abschätzen. Aus diesem Grund wurden von uns verschiedene mikrobiologische Testverfahren von verschiedenen Herstellern ausgewählt. Die Verfahren mit der Polymerase Chain Reaction (PCR) und Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) wurden auf Grund ihrer hohen Sensitivität bevorzugt verwendet [38], wobei unsere Auswahl durchaus noch durch das eine oder andere Verfahren hätte ergänzt werden können (zum Beispiel um die Ligase Chain Reaction (LCR)). Keines der verwendeten Verfahren wurde speziell für das Parodontalgewebe entwickelt, sondern im Allgemeinen für die Diagnostik aus Abstrichen aus dem Urin oder den Geschlechtsorganen. Auf Grund der fraglichen mikrobiologischen Spezifität und Sensitivität der verwendeten Testverfahren für das Parodontalgewebe ist das vorliegende Ergebnis von keinem positiven Befund als nicht wirklich aussagefähig zu betrachten und muss als negativ nur für die von uns angewendeten Verfahren angesehen werden [11]. Ob Chlamydien im Taschenepithel und parodontalen Granulationsgewebe bei einer Parodontitis nachzuweisen sind, und ob sie durch das erkrankte Gewebe während zahnärztlicher chirurgischer oder parodontalchirurgischer Eingriffe durch transitorische Bakteriämie in den menschlichen Organismus gelangen, bleibt bis zur Entwicklung spezifischer mikrobiologischer Testverfahren für das Parodontalgewebe dahingestellt [38, 39, 53, 54].

4.2. Diskussion der Ergebnisse

Aus der erhobenen Anamnese konnte der vermutete Zusammenhang zwischen einer Chronischen Parodontitis und Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises und der reaktiven Arthritis inclusive des Reiter-Syndroms [6, 9, 15, 28, 35,41] mit einer Chlamydieninfektion nicht verstärkt werden. Lediglich neun der vierundvierzig Probanden gaben eine der angegebenen Erkrankungen (Arthritis, Polyarthritis, rheumatische Beschwerden) in der Anamnese an. Häufiger (24 Patienten) litten die Patienten unter Unverträglichkeiten gegenüber bestimmten Nahrungsmitteln oder Arzneimitteln und Allergien. Auch ein Zusammenhang zwischen einer koronaren Herzerkrankung und dem Befund einer Chronischen Parodontitis konnte durch unsere klinische Studie statistisch nicht bestätigt werden, da lediglich 10 bzw. 6 Probanden eine Erkrankung des Herz-/Kreislaufsystems angaben [2, 3, 7, 12, 14, 28, 29, 30, 39, 60]. Bei mehr als der Hälfte der Probanden lagen auch in direkter Verwandtschaft Parodontopathien vor, was eine genetische Disposition für diese Erkrankung nahe legt. Bei den übrigen angegebenen Erkrankungen kam es zu keiner wesentlichen Häufung der positiven Nennungen.

Die Auswertung der allgemeinen Anamnese zeigte in der Kombination von Zigarettenrauchen, Kaffeetrinken und Stress eine statistische Prävalenz für eine Parodontitis; zwanzig der Probanden gaben an, sowohl häufig Kaffee zu trinken, Zigaretten zu rauchen und unter beruflichen und/oder privatem Stress zu leiden. Der parodontale Befund der Zähne der Probanden hat sich im Laufe der Behandlung verbessert, so sanken die parodontalen Sondierungstiefen bei den Molaren im Oberkiefer um 1,01 und 1,69 mm und im Unterkiefer um 0,4 bis 1,49 mm, bei den Praemolaren im Oberkiefer um 0,94 mm bis 1,5 mm und im Unterkiefer um 1,15 mm bis 1,36 mm, im Vergleich zum Ausgangsbefund. Die parodontale Sondierungstiefe der Canini im Oberkiefer sank um 1,14 mm bis 1,48 mm und im Unterkiefer um 1,36 mm bis 1,38 mm, bei den Inzisivi des Oberkiefer

sank die Sondierungstiefe um 1,52 mm bis 1,57 und im Unterkiefer um 1,21 mm bis 1,40 mm im Vergleich zum Ausgangsbefund. Insgesamt ist der Therapieerfolg gemessen an der Verbesserung der Sondierungstiefen sechs Monate nach dem Ende der Therapie im Oberkiefer als erfolgreicher einzustufen als im Unterkiefer. Eine Verbesserung der Sondierungstiefen nach parodontaler Therapie um 1 mm bis 1,69 mm ist insgesamt als Therapieerfolg anzusehen [4, 40, 45]. Auch die erhobenen Entzündungs- und Mundhygieneindizes verbesserten sich deutlich während der Therapie, wobei bei den erhobenen Indizes (SBI, API, PBI und QH) auffällig ist, dass es bei allen Probanden zu einer zwischenzeitlichen Verschlechterung der Indizes SBI und PBI zwischen der zweiten und dritten Messung gekommen war. Zur vierten Messung stellten sich die erhobenen Indizes aber wieder deutlich verbessert gegenüber den zuvor gemessenen Werten dar. Dies mag an der reduzierten Motivation nach der zunächst durch den Behandler mitgeteilten Verbesserung zwischen erster und zweiter Messung gelegen haben, da es für die Probanden deutlich schwerer ist, einen erreichten Mundhygienestandard aufrecht zu halten, als ihn zunächst erstmalig zu verbessern. Die Ergebnisse der Immunologischen Serologie waren sowohl für Behandler als auch für die Probanden sehr überraschend. 36 der 44 Probanden hatten bereits eine Infektion mit *Chlamydia pneumoniae* ohne eigene Kenntnis von der Infektion durchlebt, wobei die weiblichen Probanden deutlich höher betroffen waren (Frauen 24/27, Männer 13/17). Dieser Befund spricht für eine sehr hohe unbekannte Durchseuchung der Bevölkerung mit *Chlamydia pneumoniae*, so wie auch schon in der Literatur beschrieben [27].

Das mit den verwendeten immunologischen Testverfahren keine positiven Befunde ermittelt werden konnten, sollte Anreiz dafür sein, spezifischere, besser auf das parodontale Gewebe abgestimmte Testverfahren zu entwickeln, mit denen das Taschenepithel als mögliche Eintrittsstelle für Chlamydien durch transitorische Bakteriämie während zahnärztlicher Behandlungen in den menschlichen Organismus ausgeschlossen oder bewiesen werden kann [38, 39, 53].

Wir konnten unsere Hypothese: „Kann eine intraorale intraepitheliale Infektion mit Chlamydien beim parodontal erkrankten Patienten durch transitorische Bakteriämie zur Infektion des Gesamtorganismus führen?“ durch unsere klinische Studie nicht nachweisen, aber auch nicht eindeutig ausschließen, da wir mit den von uns verwendeten immunologischen Untersuchungsmethoden keine Chlamydien im parodontalen Epithel nachweisen konnten. Die Tatsache, dass bei einem sehr hohen serologisch positiven Antikörpernachweis mit keinem der angewandten immunologischen Verfahren Chlamydien im Taschenepithel der hier untersuchten Probanden mit einer chronischen Parodontitis nachgewiesen werden konnten, lässt jedoch den Schluss zu, dass ein Infektionsweg über das Taschenepithel bei einer Parodontitis weitgehend auszuschließen ist.

5. Zusammenfassung

In den letzten Jahren hat die Rolle von Anaerobiern in der kausalen Pathogenese systemischer Erkrankungen zunehmend an Bedeutung gewonnen.

Der mikrobiologische Befund von Chlamydien in atherosklerotischer Plaque hatte Ende der neunziger Jahre für ein verstärktes Forschungsinteresse gesorgt, und weltweit wurden diverse Krankheiten wie das Reiter-Syndrom, Arthrosen unklarer Genese, Multiple Sklerose, Myokarditis, Hörsturz, Trachom und besonders die Atherosklerose mit der Anwesenheit von Chlamydien in Verbindung gebracht. Heutige Erkenntnisse zeigen, dass die aufkommende Euphorie im Hinblick auf die kausale Pathogenese der Chlamydien bei der Atherosklerose verfehlt und verfrüht war, da in der atherosklerotischen Plaque zwar Chlamydien gefunden werden konnten, aber bis heute kein Zusammenhang zur Entstehung oder dem Verlauf der Erkrankung nachgewiesen wurde. Auch bei den anderen Erkrankungen handelt es sich zumeist um Einzel- oder Zufallsbefunde, die klinisch und statistisch bisher nicht belegt werden konnten.

Chlamydien sind obligat intrazelluläre parasitäre Bakterien, deren bakteriologische Besonderheit in den während des Entwicklungs- und Vermehrungszyklus auftretenden zwei Formen als Elementarkörperchen (EK) und Initialkörperchen (IK) liegt, wobei sich das infektiöse EK auf den extrazellulären Aufenthalt optimiert hat, während das IK für die intrazelluläre Vermehrung zuständig ist. Diese Besonderheit ermöglicht es, den Chlamydien nach intrazellulärer Vermehrung und Persistenz in der Zelle in einem Organismus zu wandern.

Drei humanpathogene Spezies der Chlamydien mit einer Vielzahl von verschiedenen Serovaren sind bekannt, wobei der Erreger der Ornithose (*Chlamydia psittaci*) für unsere klinische Studie nicht von Bedeutung war. Viel interessanter war die Infektionen des Respirationstrakt auslösende Spezies der

Chlamydia pneumoniae sowie die beim Erwachsenen Urethritis, reaktive Arthritis und Konjunktivitis auslösende Spezies der *Chlamydia trachomatis*.

Während des klinischen Studentenbehandlungskurses der Parodontologie Teil 2 an der Westdeutschen Kieferklinik (Universitätsklinikum Düsseldorf) wurden 44 Patienten, deren Einschlusskriterium der Befund einer chronischen Parodontitis, hinsichtlich der Hypothese "Kann eine intraorale intraepitheliale Infektion mit Chlamydien beim parodontal erkrankten Patienten durch transitorische Bakteriämie während zahnärztlicher chirurgischer und parodontalchirurgischer Eingriffe zur Infektion des Gesamtorganismus führen " untersucht.

Es wurden dabei 44 Patienten untersucht, von denen 27 weiblich und 17 männlich waren. Der jüngste Patient war 27, die Älteste 63 Jahre jung.

Der klinische Ablauf der Studie gliederte sich in drei Abschnitte auf, den diagnostischen, den therapeutischen und den Kontrollabschnitt.

Beim ersten Termin wurde eine sehr ausführliche Allgemeinmedizinische Anamnese und orale klinische Befundaufnahme mit Bestimmung der Sondierungstiefen des erkrankten Parodonts als Ausgangsbefund vor Therapiebeginn erhoben. Zusätzlich wurde beim ersten Termin eine venöse Blutentnahme zum serologischen Nachweis von Anti - *Chlamydia* Antikörpern gegen *Chlamydia pneumoniae* und *Chlamydia trachomatis* durch die Serologie des Universitätsklinikums Düsseldorf durchgeführt.

Während des therapeutischen Abschnitts wurde eine konservativ geschlossene Therapie durchgeführt, wobei das entfernte infizierte Taschenepithel und Granulationsgewebe der betroffenen Parodontien in Nährlösung gegeben und bis zur immunologischen Untersuchung gekühlt gelagert wurde. Zur immunologischen Untersuchung verwendeten wir den Sero CP & Sero CT[®] der Firma Hain Diagnostika, ChlamyGen ELISA[®] der Firma Hain Diagnostika sowie den Cobas Amplicor[®] der Firma Roche und den IDEIA PCE Clamydia[®] der Firma Dako Ltd.

Im Kontrollabschnitt wurde vier Wochen nach Therapieende eine erneute Sondierungstiefenmessung durchgeführt und vereinzelt entsprechende weitere Therapieschritte eingeleitet.

Immunologisch Serologisch waren fünfunddreißig Patienten positiv auf Anti – Chlamydia pneumoniae IgA-AK und sechsunddreißig Patienten auf Anti – Chlamydia pneumoniae IgG-AK. Lediglich ein Patient war positiv auf Anti – Chlamydia trachomatis IgA-AK und sechs Patienten auf Anti – Chlamydia trachomatis IgG-AK.

Der Befund von 90 % (weiblich) bzw. 76 % (männlich) positiver Untersuchungsergebnisse auf Antikörper gegen Chlamydia pneumoniae war sehr überraschend, da kein Patient anamnestisch von einer Chlamydieninfektion wusste.

Mit den von uns verwendeten immunologischen Untersuchungsverfahren (2 x PCR und 3 x ELISA) konnte kein positiver Befund nachgewiesen werden.

Ob mit immunologischen oder mikrobiologischen Verfahren, spezifiziert für das parodontale Gewebe, positive Ergebnisse zu ermitteln wären, bleibt unbeantwortet und kann bis zum Vorliegen geeigneter Testverfahren nur als Spekulation angesehen werden.

Auch der Einsatz von Verfahren unter Verwendung der Ligasekettenreaktion (LCR) kommt für weitere Untersuchungen in Betracht. Eine Bakteriämie durch eine intraorale, intraepitheliale Infektion mit Chlamydien kann durch die von uns verwendeten unspezifischen immunologischen Untersuchungsverfahren nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden. Hier werden weitere Forschungsergebnisse zukünftig Klarheit bringen.

6. Literaturverzeichnis

1. Andrews WW, Lee HH, Roden WJ, Mott CW: Detection of genitourinary tract *Chlamydia trachomatis* infection in pregnant woman by ligase chain reaction assay. *Obstet Gynecol*, 1997, 89/4, 556-60
2. Anderson JL, Muhlestein JB, Carlquist J, Allen A, Trehan S, Nielson C, Hall S, Brady J, Egger M, Horne B, Lim T: Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease and serological evidence for *Chlamydia pneumoniae* infection: the Azithromycin in coronary artery disease: elimination of myocardial infection with *Chlamydia* (ACADEMIC). *Circulation*, 1999; 99, 1540-1547
3. Bachmaier K, Neu N, de la Maza LM, Pal S, Hessel A, Penninger JM: *Chlamydia* infections and heart disease linked through antigenic mimicry. *Science*, 1999, 283, 1335-1339
4. Badersten A, Nilvens R, Egelberg J: Effects of nonsurgical periodontal Therapy. *J. Clin. Periodontol* 1984, Jan;11(1), 63 – 76
5. Balin BJ, Gerard HC, Arking EJ, Appelt DM, Branigan PJ, Abrams JT, Whittum-Hudson JA, Hudson AP: Identification and localization of *Chlamydia pneumoniae* in the Alzheimer's brain. *MedMicrobiol Immunol* 1998(Berl), 187, 23-42
6. Bas S, Ninet B, Delaspre O, Vischer TL: Evaluation of commercially available tests for *Chlamydia* nucleic acid detection in synovial fluid of patients. *BrJ Rheumatol* 1997, 36(2), 198-202
7. Beck J, Garcia R, Heiss G, Vokonas PS, Offenbacher S: Periodontal Disease and cardiovascular disease. *J Periodontol* 1996, 67/10, 1123-1137
8. Beebe JL, Masters H, Jungkind D, Heltzel DM, Weinberg A: Confirmation of Syva Micro Tak enzyme immunoassay for *Chlamydia trachomatis* by Syva Direct Fluorescent Antibody Test. *Sex Transm Dis* 1996, 23/6, 465-470

9. Beutler AM, Schumacher HRjr, Whittum-Hudson JA, Salameh WA, Hudson AP: Case report, in situ hybridization for detection of inapparent infection with *Chlamydia trachomatis* in synovial tissue of a patient with Reiter's syndrome. *AM J Med Sci* 1995, 310 /5, 206-213
10. Bini L, Sanchez-Campillo M, Santucci A, Magi B, Marzocchi B, Comanducci M, Christiansen G, Birkelund S, Cevenini R, Vretou E, Ratti G, Pallini V: Mapping of *Chlamydia trachomatis* proteins by immobilized polyacrylamide two dimensional electrophoresis, spot identification by N terminal sequencing and immunoblotting. *Elektrophoresis* 1996, 17/1, 185-190
11. Black CM: Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev* 1997, 10/1, 160 – 184
12. Blasi F, Denti F, Erba M, Cosentini R, Raccanelli R, Rinaldi A, Fagetti L, Esposito, G, Ruberti U, Allegra L: Detection of *Chlamydia pneumoniae* but not *Helicobacter pylori* in atherosclerotic plaques of aortic aneurysms. *J Clin Microbiol* 1996, 34/11, 2766-2769
13. Boman J, Gaydos CA, Quinn TC : Molecular diagnosis of *Chlamydia pneumoniae* infection. *J Clin Microbiol* 1999, 37, 3791-3799
14. Boman J, Soderberg S, Forsberg J, Birgander LS, Allard A, Persson K, Jidell E, Kumlin U, Juto P, Waldenstrom A, Wadell G : High prevalence of *Chlamydia pneumoniae* DNA in peripheral blood mononuclear cells in patients with cardiovascular disease and in middle-aged blood donors. *J Infect Dis* 1998, 178, 274-277
15. Braun J, Laitko S, Treharne J, Eggens U, Wu P, Distler A, Sieper J: *Chlamydia pneumoniae* a new causative agent of reactive arthritis and undifferentiated oligoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1994, 53, 100-105
16. Brockmann S: *Chlamydia pneumoniae* - Ein Erreger chronischer, extrapulmonaler Infektionen? *Chlamydiensyndrom : Deutsches Ärzteblatt* 2001, 17 , A – 1135
17. Buimer M, van Doornum GJ, Ching S, Peerbooms PG, Plier PK, Ram D, Lee HH: Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by

- ligase chain reaction based assays with clinical specimens from various sites, implications for diagnostic testing and screening. *J Clin Microbiol.* 1996, 34/10, 2395-400
18. Campbell LA, Kuo CC, Grayston JT: Structural and antigenic analysis of *Chlamydia pneumoniae*. *Infection and Immunity* 1990; 58: 93-97
 19. Chacko MR, Kozinetz CA, Hill R, Collins K, Dunne M, Hergenroeder AC: Leukocyte esterase dipstick as a rapid screening test for vaginitis and cervicitis. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 1996, 9/4, 185-189
 20. Chernesky MA, Chong S, Jang D, Luinstra K, Sellors J, Mahony JB: Ability of commercial ligase chain reaction and PCR assays to diagnose *Chlamydia trachomatis* infections in men by testing first void urine. *J Clin Microbiol.* 1997, 35/4, 982-984
 21. Clad A, Naudascher I, Flecken U, Freidank HM, Petersen EE: Evidence of labile inhibitors in the detection of *Chlamydia trachomatis* in cervical specimens by polymerase chain reaction. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996, 15/9, 744-777
 22. Daugharty H, Messmer TO, Fields BS : ELISPOT assay for *Chlamydia* specific, antibody producing cells correlated with conventional complement fixation and microimmunofluorescence. *J Clin Lab Anal* 1997 ; 11/1 : 45-52
 23. DiDomenico N, Link H, Knobel R, Caratsch T, Weschler W, Loewy ZG, Rosenstraus M: COBAS AMPLICOR, fully automated RNA and DNA amplification and detection system for routine diagnostic PCR. *ClinChem* 1996, 42/12, 1915-1923
 24. Döller G, Döller PC: *Chlamydia* in, Werner H.,(Hrsg.) : *Medizinische Mikrobiologie mit Repetitorium*, de Gruyter, Berlin 1992, 269-275
 25. Domeika M, Ganusaukas A, Bassiri M, Froman G, Mardh PA: Comparison of polymerase chain reaction, direct immunofluorescence, cell culture and enzyme immunoassay for the detection of *Chlamydia psittaci* in bull semen. *Vet Microbiol* 1994, 42/4, 273-280
 26. Essig A, Marre R: Diagnosis and therapy of *Chlamydia* infections. *Dtsch*

- Med Wochenschr. 1997, 122, 971-975
27. Essig A, Marre R : Chlamydia pneumoniae : Ein Erreger chronischer, extrapulmonaler Infektionen? Dt. Ärztebl 2000; 97: A 3440-3443[Heft 50]
 28. Gaston JS, Deane KH, Jecock RM, Pearce JH : Identification of 2 Chlamydia trachomatis antigens recognized by synovial fluid T cells from patients with Chlamydia induced reactive arthritis. J rheumatol 1996, 23/1, 130-136
 29. Genko R, Chadda S, Grossi S, Dunford R, Taylor G, Knowler W, Pettitt D: Periodontal disease is a predictor of cardiovascular disease in a native American population. J Dent Res 1997, 76, 408
 30. Grayston JT, Campbell LA : The role of Chlamydia pneumoniae in atherosclerosis. Clin Infect Dis 1999, 28, 993-994
 31. Grayston JT: Epidemiology of Chlamydia pneumoniae (TWAR). Angelika Stary (ed.). Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Vienna, Austria, 11.-14. September, 211-214
 32. Haberbosch W, Jantos C: Chlamydia pneumoniae ist kein unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen. Herz 2000, 25, 79-83
 33. Hahn M, Chlamydien, in, Hahn H, Falke D, Klein P: Medizinische Mikrobiologie, 2.Auflage, Springer, Berlin 1994
 34. Hammerschlag MR, Roblin PM, Gelling M, Tsumura N, Jule JE, Kutlin A: Use of polymerase chain reaction for the detection of Chlamydia trachomatis in ocular and nasopharyngeal specimens from infants with conjunctivitis. Pediatr Infect Dis J 1997, 16/3, 293-297
 35. Hannu T, Puolakkainen M, Leirisalo-Repo M: Chlamydia pneumoniae as a triggering infection in reactive arthritis. Rheumatology 1999(Oxford), 38, 411-414
 36. Jantos CA, Nessler A, Waas W, Baumgartner W, Tillmanns H, Haberbosch W: Low prevalence of Chlamydia pneumoniae in atherectomy specimens from patients with coronary heart disease. Clin Infect Dis 1999, 28, 988-992

-
37. Kaiser FH, Bienz KA, Eckert J, Lindemann J : Medizinische Mikrobiologie, 8.Auflage, Thieme, Stuttgart 1993
 38. Kiel V, Herforth A: Intraepitheliale Infektionen mit Chlamydien und ihre Problematik für zahnärztliche und parodontalchirurgische Eingriffe. Parodontologie 1998, 4 , 325-333
 39. Kiel V, Herforth A: Spielen Chlamydien eine Rolle bei der refraktären Parodontitis? DZW 1999, 7/99
 40. Kieser JB, Periodontics: A practical Approach, Wright London, 1990, D 660 Kie
 41. Kirchner JT: Reiter`s syndrome. A possibility in patients with reactive arthritis. Postgrad Med 1995, 97/3, 111-2,115-7,121-2
 42. Kocher T, Griewing B: Parodontitis marginalis und ihr Einfluß auf systemische Erkrankungen. ZM 1999, 2/99
 43. Kocher T, Griewing B, Lösche W: Parodontitis marginalis und kardiovaskuläre Erkrankungen. Deutsch Ärzteblatt 1999, 42, A – 2678
 44. Kuo CC, Jackson LA, Campbell A, Grayston JT: Chlamydia pneumoniae (TWAR). Clin Microbiol Rev 1995, 8, 451-461
 45. Lang NP et al: Proceedings of the European Workshop on Mechanical Plaque Control. Chicago, Quintessenz, 1998
 46. Morre SA, Sillekens P, Jacobs MV, van Aarle P, de Blok S, van Gemen B, Walboomers JM, Meijer CJ, van den Brule AJ: RNA amplification by nucleic acid sequence based amplification with an internal standard enables reliable detection of Chlamydia trachomatis in cervical scrapings and urine samples. J Clin Microbiol 1996; 34/12: 3108-3114.
 47. Muhlestein JB, Hammond EH, Carlquist JF, Radicke E, Thomson MJ, Karagounis LA, Woods ML, Anderson JL: Increased incidence of Chlamydia species within the coronary arteries of patients with symptomatic atherosclerotic versus other forms of cardiovascular disease. J Am Coll Cardiol 1996, 27/7, 1555-1561.

-
48. Nochlin D, Shaw CM, Campbell LA, Kuo CC: Failure to detect *Chlamydia pneumoniae* in brain tissues of Alzheimer's disease. *Neurology* 1999; 53: 1888
 49. Numazaki K, Ikebe T, Chiba S: Detection of serum antibodies against *Chlamydia pneumoniae* by ELISA, FEMS. *Immunol Med Microbiol* 1996; 14/2-3: 179-183
 50. Pasternack R, Vuorinen P, Pitkajarvi T, Koskela M, Miettinen A: Comparison of manual Amplicor PCR, Cobas Amplicor PCR, and LCx assays for detecting of *Chlamydia trachomatis* infection in women by using urine specimens. *J Clin Microbiol* 1997, 35/2, 402-405.
 51. Pasternack R, Vuorinen P, Miettinen A: Evaluation of the gen probe *Chlamydia trachomatis* transcription mediated amplification assay with urine specimens from women. *J Clin Microbiol* 1997; 35/3: 676-678.
 52. Ramirez JA: Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from the coronary artery of a patient with coronary atherosclerosis. The *Chlamydia pneumoniae/Atherosclerosis Study Group*. *Ann Intern Med* 1996, 15, 125/12, 979-982.
 53. Rechmann P, Seewald M, Thomas L, Horstkotte D, Untersuchung zur Bakteriämie bei zahnärztlichen Eingriffen. *Dtsch Zahnärztl Z* 1986, 41, 996-999.
 54. Renggli HR: Ätiologie marginaler Parodontopathien. In: Ketterl W (Hrsg.): *Praxis der Zahnheilkunde, Bd.4: Parodontologie*. 2.Aufl., Urban & Schwarzenberg, München 1990
 55. Roblin PM, Gelling M, Kutlin A, Tsumura N, Hammerschlag MR: Evaluation of a new optical immunoassay for diagnosis of neonatal chlamydial conjunctivitis. *J Clin Microbiol* 1997; 35/2: 515-516
 56. Roymanns RTJM, Onland G, Postma BH: One day detection of PCR amplified *Chlamydia trachomatis* DANN in clinical samples, ELISA versus Southern blot hybridization. *J Clin Pathol* 1996, 49, 581-583.

-
57. Spears PA, Linn CP, Woodward DL, Walker GT: Simultaneous strand displacement amplification and fluorescence polarization detection of *Chlamydia trachomatis* DNA. *Anal Biochem* 1997; 5,247/1, 130-137
 58. Sriram S, Stratton, Yao S, Tharp A, Ding L, Bannan JD, Mitchell WM: *Chlamydia pneumoniae* infection of the central nervous system in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1999; 46: 6-14
 59. Stary A, Tomazic-Allen S, Choueiri B, Burczak J, Steyrer K, Lee H: Comparison of DNA amplification methods for the detection of *Chlamydia trachomatis* in first void urine from asymptomatic military recruits. *Sex Transm Dis* 1996; 23/2: 97-102
 60. Theil D, Hoop R, Herring AJ, Pospischil A: Detection of *Chlamydia* in formalin fixed and paraffin embedded avian tissue by in situ hybridization. A comparison between in situ hybridization and peroxidase antiperoxidase labelling. *Zentralbl Veterinärmed B* 1996; 43/6: 365-370
 61. Toye B, Peeling RW, Jessamine P, Clamann P, Gemmill I: Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections in asymptomatic men and women by PCR assay. *J Clin Microbiol* 1996, 34/6, 1396-1400.
 62. Weiss SM, Roblin PM, Gaydos CA, Cummings P, Patton DL, Schulhoff N: Failure to detect *Chlamydia pneumoniae* in coronary atheromas of patients undergoing atherectomy. *J Infect Dis* 1996, 173/4, 957-962
 63. Zambon JJ, Haraszthy VI, Grossi S, Genco RJ: Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Dent Res (Abstr.)* 1997, 76, 408
 64. Zanetti S, Sechi L, Pinna A, Sanna A, Usai D, Carta F, Fadda GAD: One tube nested polymerase chain reaction in the diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *New Microbiol* 1997, 20/1, 29-34

Lebenslauf

Angaben zur Person

Name: Martin – Stefan Bork
Eltern: Arno Gustav Karl Bork †
Marianne Bork, geb. Preuß
Geburtstag und –ort: 14. Januar 1968 in Remscheid
Familienstand: verheiratet mit Birgit Bechstein - Bork
Ein Sohn Nils Moritz Bork, 16 Jahre alt
Konfession: evangelisch
Nationalität: deutsch

Schulbildung

08/74 – 06/76 Grundschole Eisenstein in Remscheid
08/78 – 06/78 Grundschole Am Stadtpark in Remscheid
08/78 – 06/84 Leibniz – Gymnasium in Remscheid
08/84 – 06/87 Ernst–Moritz–Arndt – Gymnasium in Remscheid
Abschluss Abitur

Studium

04/89 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der
Justus – Liebig – Universität in Giessen
09/94 Wechsel des Studiengangs zur Zahnmedizin an
der Rheinischen Friedrich – Wilhelms –
Universität zu Bonn
09/96 Wechsel des Studienortes zur Heinrich – Heine –
Universität in Düsseldorf
06/00 Staatsexamen Zahnmedizin, Endnote `gut`

Abstract

Titel: Kann eine intraorale intraepitheliale Infektion mit Chlamydien beim parodontal erkrankten Patienten durch transitorische Bakteriämie zur Infektion des Gesamtorganismus führen?

Vorgelegt von: Bork, Martin – Stefan zur Erlangung der Promotion

In den letzten Jahren hat die Rolle von Anaerobiern in der kausalen Pathogenese systemischer Erkrankungen zunehmend an Bedeutung gewonnen. Der mikrobiologische Befund von Chlamydien in atherosklerotischer Plaque hatte Ende der neunziger Jahre für ein weltweit verstärktes Forschungsinteresse gesorgt. Es konnte bis heute kein Zusammenhang zwischen einer Chlamydieninfektion und assoziierten systemischen Erkrankungen wie Arthrosen unklarer Genese, dem Reiter-Syndrom, der Multiplen Sklerose und anderen bewiesen werden.

Chlamydien sind obligat intrazelluläre parasitäre Bakterien, welche nach intrazellulärer Vermehrung und Persistenz in der Zelle in einem Organismus wandern können. Drei humanpathogene Spezies der Chlamydien mit einer Vielzahl verschiedener Serovare sind bisher bekannt (*Chlamydia psittaci*, *Chlamydia trachomatis* und *Chlamydia pneumoniae*).

Während des Studentenbehandlungskurses wurden 44 ausgewählte Patienten hinsichtlich der Hypothese „Kann eine intraorale intraepitheliale Infektion mit Chlamydien beim parodontal erkrankten Patienten durch transitorische Bakteriämie zur Infektion des Gesamtorganismus führen?“ untersucht. Zum serologischen Nachweis auf Anti-Chlamydia Antikörper wurde vor Studienbeginn eine Blutentnahme vorgenommen und das während der Parodontaltherapie entnommene Taschenepithel und Granulationsgewebe immunologisch mit fünf verschiedenen Testverfahren (SeroCP®, SeroCT®, ChlamyGen®, Cobas Amplicor®, IDEIA PCE®) zum Nachweis von Chlamydien untersucht. 90 % der weiblichen und 76 % der männlichen Probanden waren serologisch positiv auf Antikörper gegen *Chlamydia pneumoniae*, allerdings konnte immunologisch in den Gewebeuntersuchungen kein positiver Befund ermittelt werden. Die Tatsache, dass bei einem sehr hohen serologisch positiven Antikörpernachweis mit keinem der angewandten immunologischen Verfahren Chlamydien im Taschenepithel der hier untersuchten Probanden mit einer chronischen Parodontitis nachgewiesen werden konnten, lässt den Schluss zu, dass ein Infektionsweg über das Taschenepithel bei einer Parodontitis weitgehend auszuschließen ist.