Universität Ulm
Klinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie
Department für Zahnheilkunde
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. Bernd Haller

# Der Einsatz des lokalen Antibiotikums Arestin als adjuvante, antimikrobielle Therapiemaßnahme bei Zahnfleischtaschen mit persistierender Entzündung/Infektion

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Vorgelegt von:
Manuel Kurasch
Geboren in Ulm

2013

**Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth**

**1. Berichterstatter: Prof. Dr. Axel Spahr**

**2. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Stephan Haase**

**Tag der Promotion: 13. Februar 2014**

Für meine Eltern

# Inhaltsverzeichnis


| | | |
|---|---|---|
| | **Abkürzungsverzeichnis** | **III** |
| **1.** | **Einleitung** | **1** |
| 1.1 | Parodontium | 1 |
| 1.1.1 | Gingiva | 1 |
| 1.1.2 | Wurzelzement | 2 |
| 1.1.3 | Alveolarknochen | 2 |
| 1.1.4 | Parodontales Ligament | 3 |
| 1.2 | Parodontitis | 5 |
| 1.2.1 | Definition, Ätiologie und Pathogenese | 5 |
| 1.2.2 | Parodontalpathogene Erreger | 6 |
| 1.2.3 | Therapie der Parodontitis | 9 |
| 1.3 | Adjuvante antimikrobielle Therapie | 10 |
| 1.3.1 | Systemische Anwendung | 10 |
| 1.3.2 | Lokale Anwendung | 11 |
| 1.3.2.1 | Lokales Antiseptikum Chlorhexidin | 12 |
| 1.3.2.2 | Photodynamische Therapie (PDT) | 14 |
| 1.3.2.3 | Lokale Antibiotika | 15 |
| 1.4 | Die Anwendung lokaler Antibiotika | 16 |
| 1.5 | Wissenschaftliche Fragestellungen | 19 |
| **2.** | **Material und Methode** | **20** |
| 2.1 | Arestin | 20 |
| 2.2 | Florida-Probe | 22 |
| 2.3 | Lokalanästhesie | 27 |
| 2.4 | Studiendesign | 27 |
| 2.4.1 | Patientenrekrutierung | 27 |
| 2.4.2 | Professionelle Zahnreinigung und Abformungen | 28 |
| 2.4.3 | Therapie | 29 |
| 2.4.4 | Diagnostik | 30 |
| 2.5 | Realtime PCR | 34 |
| 2.6 | Statistische Auswertung | 36 |

| | | |
|---|---|---|
| **3.** | **Ergebnisse** | **37** |
| 3.1 | Diskription des Kollektivs | 37 |
| 3.1.1 | Anzahl, Lebensalter und Geschlecht der Patienten | 37 |
| 3.1.2 | Gesamtzahl der Zahnpaare und Anzahl Zahnpaare pro Patient | 37 |
| 3.1.3 | Einfluss der Größen Alter, Geschlecht und Wurzligkeit | 38 |
| 3.2 | Klinische Messergebnisse | 38 |
| 3.2.1 | Sondierungstiefen | 38 |
| 3.2.2 | Klinischer Attachmentlevel | 41 |
| 3.2.3 | Blutung bei Sondierung | 44 |
| 3.2.4 | Gingial-Index | 45 |
| 3.2.5 | Plaque-Index | 46 |
| 3.3 | Mikrobiologische Untersuchungen | 47 |
| 3.3.1 | Anzahl Zahnpaare mit positivem Keimnachweis | 47 |
| 3.3.2 | Effekt der Therapie auf die Keimzahl von A.a. | 47 |
| 3.3.3 | Effekt der Therapie auf die Keimzahl von P.g. | 48 |
| 3.3.4 | Effekt der Therapie auf die Keimzahl von T.f. | 49 |
| 3.3.5 | Effekt der Therapie auf die Keimzahl von P.i. | 50 |
| 3.3.6 | Effekt der Therapie auf die Keimzahl von T.d. | 52 |
| 3.3.7 | Effekt der Therapie auf die gesamte Keimzahl | 53 |
| **4.** | **Diskussion** | **55** |
| 4.1 | Diskussion der Methode | 57 |
| 4.1.1 | Messung der klinische Parameter mittels Florida-Probe | 57 |
| 4.1.2 | Entnahme der Plaqueproben | 58 |
| 4.1.3 | Keimnachweis mittels Realtime PCR | 58 |
| 4.2 | Diskussion der Ergebnisse | 62 |
| 4.2.1 | Klinische Ergebnisse | 63 |
| 4.2.2 | Mikrobiologische Untersuchungen | 74 |
| 4.3 | Schlussfolgerungen | 82 |
| **5.** | **Zusammenfassung** | **84** |
| **6.** | **Literaturverzeichnis** | **86** |
| **7.** | **Dank** | **97** |
| **8.** | **Lebenslauf** | **98** |

## Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---|---|
| A.a. | Aggregatibacter actinomycetemcomitans |
| API | Approximalraum-Plaque-Index |
| AMG | Arzneimittelgesetz |
| b | buccal |
| BL | Baseline |
| BOP | Blutung bei Sondierung |
| bzw. | beziehungsweise |
| ˚C | Grad Celsius |
| ca. | circa |
| CAL | Klinischer Attachmentlevel |
| CHX | Chlorhexidin |
| d | distal |
| db | disto-buccal |
| d.h. | das heißt |
| dl | disto-lingual |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| etc. | et cetera |
| ggf. | gegebenenfalls |
| GI | Gingiva-Index |
| h | Stunde |
| l | lingual |
| IL-1ß | Interleukin 1ß |
| IL-6 | Interleukin 6 |
| IL-8 | Interleukin 8 |
| IR | Interquartilsabstand |
| ISO | International Organization for Standardization |
| IQR | Interquartilabstand |
| M | Monat |

| | |
|---|---|
| mb | mesio-buccal |
| mm | Millimeter |
| MO | Mikroorgansimen |
| NaCl | Natriumchlorid |
| nm | Nanometer |
| p | p-Wert (Signifikanzwert) |
| PCR | Polymerase-Kettenreaktion |
| PDT | Photodynamische Therapie |
| P.g. | Porphyromonas gingivalis |
| PI | Plaque-Index |
| qPCR | Quantitative Polymerase-Kettenreaktion |
| SD | Standardabweichung |
| SRP | Scaling und Wurzelglättung |
| ST | Sondierungstiefe |
| T.d. | Treponema denticola |
| T.f. | Tannerella forsythensis |
| TNF-α | Tumornekrosefaktor α |
| u.a. | unter anderem |
| usw. | und so weiter |
| v.a. | vor allem |
| z.B. | zum Beispiel |
| ΔCAL | Änderung des klinischen Attachements |
| % | Hundertstel |
| µl | Mikroliter |
| < | kleiner als |
| > | größer als |

# 1. Einleitung

## 1.1 Parodontium

Der Zahnhalteapparat dient der Verankerung der Zähne im Knochen. Auch die Aufnahme und Weiterleitung von Kaukräften sowie der Schutz vor Überlastung ist Aufgabe des Zahnhalteapparates. Der Begriff Parodontium entstammt dem Griechischen und bedeutet „die dem Zahn benachbarten Strukturen“ (para: neben und odontos: Zahn).
Aufgebaut ist der gesunde Zahnhalteapparat aus 4 verschiedenen Geweben: Zahnfleisch (Gingiva), Wurzelzement, Alveolarknochen und parodontales Ligament (Desmodont). Mit Ausnahme der Gingiva entstammen alle Gewebe des Parodontiums dem Zahnsäckchen beziehungsweise dem dentalen Follikel.

### 1.1.1 Gingiva

Die Gingiva besteht aus drei verschiedenen Anteilen. Die freie oder auch bewegliche Gingiva liegt koronal des bindegewebigen Attachments. Nach apikal folgt die befestigte Gingiva, sie ist über Bindegewebsfasern fest mit dem Zement und Knochen verbunden. Getrennt durch die Mukogingivallinie folgt die Alveolarmukosa, welche gegenüber dem Alveolarfortsatz verschieblich ist.
Das Gingivaepithel besteht aus keratinisiertem bzw. parakeratinisiertem mehrschichtigem Plattenepithel. Die vorherrschende Zellpopulation sind Keratinozyten. Weitere Zellen des Gingivaepithels sind Melanozyten, Langerhans-Zellen und Merkel-Zellen. Innerhalb von 10 - 12 Tagen wird das Epithel der Gingiva erneuert (Turn-over Rate).

### 1.1.2 Wurzelzement

Das Wurzelzement bedeckt die äußere Oberfläche der Zahnwurzel und liegt dem Dentin direkt auf. Es dient der Verankerung kollagener Faserbündel mit der Wurzeloberfläche und dient so der Befestigung des Zahnes im Alveolarknochen. Mit dem Zement assoziierte Zellen sind Zementoblasten, Zementozyten und auch funktionell spezialisierte Fibroblasten. Zement besteht zu 67 % aus organischem Material (Kollagen), zu 16 % aus anorganischen Anteilen (Calcium, Phosphat) und zu 12 % aus Wasser. Die Zusammensetzung ähnelt der des Alveolarknochens. Zement ist regenerationsfähig und wird lebenslang gebildet. Insgesamt gibt es 4 verschiedene Zementarten: azellulärer-afibrillärer Zement, azellulärer-Fremdfaserzement, zellulärer Gemischtfaserzement und zellulärer Eigenfaserzement.

### 1.1.3 Alveolarknochen

Der Alveolarknochen hat eine Dicke von 0,1 - 0,4 mm und ist über Sharpey`sche Fasern mit den Zähnen verbunden. Der Alveolarfortsatz bzw. das alveoläre Knochenfach ist außen von Periost umgeben. Die restliche Knochensubstanz der Alveole wird in die äußere Substantia corticalis und die innere Substantia spongiosa, ein schwammartiges Gerüstwerk feiner Knochenbälkchen, gegliedert.

Alveolarknochen setzt sich zu 10 % aus Wasser, zu 20 % aus organischen Materialien (z.B. Kollagen Typ I) und zu 70 % aus anorganischen Stoffen (z.B. Hydroxylapatit) zusammen.

### 1.1.4 Parodontales Ligament

Als parodontales Ligament oder Wurzelhaut wird das Gewebe zwischen der Zahnwurzel bzw. der Zementoberfläche und dem Alveolarknochen bezeichnet. Es enthält Bindegewebsfasern aus Kollagen-Faserbündeln (Sharpey-Fasern) die den wenige Zehntel Millimeter breiten Spalt zwischen der Zahnwurzel und dem Alveolarknochen überbrücken. Diese Fasern sind so ausgerichtet, dass alle auf den Zahn einwirkenden Kräfte in Zugkräfte umgewandelt werden. Der Kieferknochen wird dadurch vor mechanischer Zerstörung geschützt und es werden Knochen bildende Zellen stimuliert um den Knochenaufbau zu unterstützen. Weiterhin enthält die Wurzelhaut auch kleine Blut- und Lymphgefäße, verschiedene Zellen der angrenzenden Gewebe und Nervenfasern.

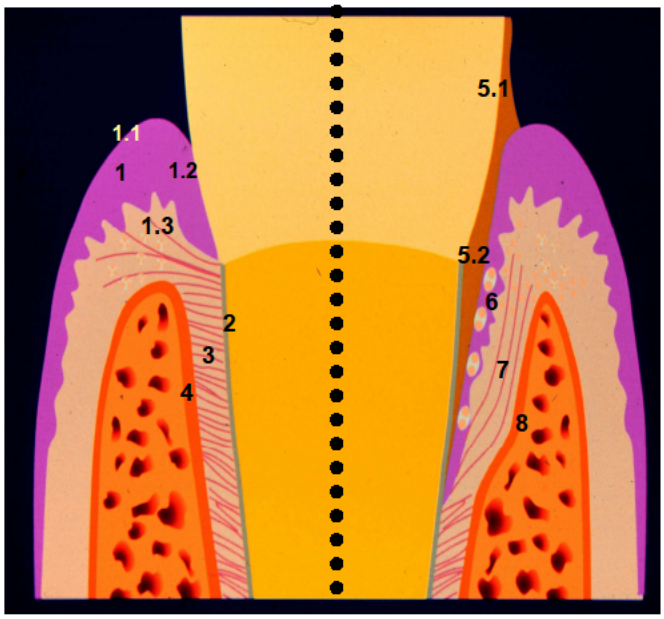


**Abbildung 1:** Skizze des Parodonts (Lange 2005), Mit freundlicher Genehmigung des Autors

**Links der Trennungslinie: gesundes Parodont**

1. Gingiva: 1.1 gingivales Epithel, 1.2 Saumepithel, 1.3 gingivales Bindegewebe
2. Wurzelzement
3. parodontales Ligament
4. Alveolarknochen

**Rechts der Trennungslinie: erkranktes Parodont (Parodontitis)**

5.1 supragingivaler Biofilm (Plaque)
5.2 subgingivaler Biofilm (Plaque)
6. Taschenepithel
7. zerstörtes parodontales Ligament
8. Verlust an Alveolarknochen

## 1.2 Parodontitis

### 1.2.1 Definition, Ätiologie und Pathogenese

Bei der marginalen Parodontitis handelt es sich um eine entzündliche Erkrankung des Zahnhalteapparates, ausgelöst durch eine chronisch verlaufende bakterielle Infektion des parodontalen Gewebes. In Deutschland sind nach neuesten epidemiologischen Untersuchungen 73,3 % der 35- bis 44- Jährigen an einer mittelschweren bis schweren Parodontitis erkrankt. Bei den 65- bis 74- Jährigen steigt dieser Anteil auf 87,8 %. Bei Jugendlichen unter 15 Jahren weisen 13,3 % eine parodontale Destruktion auf.

Klinisch stellt sich das Bild der Parodontitis mit erhöhten Sondierungstiefen (parodontale Tasche), Knochenabbau, Attachmentverlust und Entzündung der Gingiva dar. Zusätzlich kann es zu Sondierungsbluten, gingivaler Retraktion und erhöhter Mobilität bis hin zur Exfoliation bzw. Zahnverlust kommen.

Bei den über 40 Jährigen ist Parodontitis die Hauptursache für Zahnverlust.

Die Parodontitiden werden grob nach dem Beginn und der Progredienz in eine chronische und eine aggressive Form unterteilt. Bei beiden Formen können einzelne (lokalisiert) oder mehrere (generalisiert) Zähne betroffen sein. Die aggressive Parodontitis ist durch einen frühen Beginn und einen raschen Abbau parodontaler Gewebe gekennzeichnet (Armitage 1999). Bei der chronischen Parodontitis hingegen handelt es sich um eine eher langsame Degeneration des Zahnhalteapparates. Die chronische Parodontitis ist mit ca. 90 % die am häufigsten vorkommende Form der Parodontitis. Weitere Formen sind die Parodontitis als Manifestation systemischer Erkrankungen, nekrotisierende Parodontalerkrankungen, Parodontal-Abszesse, Parodontitis im Zusammenhang mit endodontischen Läsionen sowie entwicklungsbedingte oder erworbene Missbildungen und Zustände des Parodontiums. Die frühste Form der Parodontitiden stellen die entzündlichen Erkrankungen der Gingiva (Gingivitis) dar. Hauptursache fast aller Parodontitiden sind Bakterien der Plaque. Aus einer parodontalen Tasche können ca. 500 - 700 verschiedene Bakterienarten isoliert werden, von denen allerdings nur wenige parodontalpathogene Eigenschaften besitzen (Paster et al. 2001).

Die in einem Biofilm organisierten Bakterien (Marsh 2005) führen zunächst zu einer Entzündung der Gingiva. Werden diese Bakterien nicht entfernt, kommt es bei einer andauernden Reizung im fortgeschrittenen Stadium zu einer irreparablen Destruktion des Zahnhalteapparates. Davon betroffen sind neben dem Wurzelzement auch das epitheliale Attachment, der Alveolarknochen und das parodontale Ligament.

Die Entzündungsreaktion (Wirtsantwort), welche durch die Bakterien bzw. deren Toxine ausgelöst wird, spielt eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese der Parodontitiden. Dieser destruktive Prozess kann durch weitere genetische und/oder erworbene Risikofaktoren beschleunigt werden. Zu den erworbenen Risikofaktoren zählen Rauchen, Stress sowie unzureichende Mundhygiene (Papapanou 1996; Salvi et al. 1997).

Genetische Risikofaktoren sind z.B. Diabetes mellitus Typ-I, Funktionsstörungen der neutrophilen Granulozyten oder z.B. ein Interleukin-1-Polymorphismus, welche zu einem signifikant höheren Attachementverlust führen (Struch F. et al, 2008).

### 1.2.2 Parodontalpathogene Erreger:

Die subgingivale Zusammensetzung der Plaque von parodontal gesunden und erkrankten Personen unterscheidet sich erheblich (Ximenez-Fyvie 2000).

Bei den 5 Hauptkeimen, die für die parodontale Destruktion verantwortlich gemacht werden, handelt es sich um:

*Aggregatibacter Actinomycetemcomitans (A.a.), Porphyromonas gingivalis (P.g.), Tannerella forsythensis (T.f.), Prevotella intermedia (P.i.)* und *Treponema denticola (T.d.).*

#### 1.2.2.1 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans (A.a.)*

Bei *A.a.* handelt es sich um ein gram negatives, nicht bewegliches, fakultativ anaerobes Stäbchen (Zambon 1985). *A.a*. wird mit aggresiven und schwer chronischen Erkrankungen assoziiert (van Winkelhoff et al. 2002, Yano et al. 2000).

Die Keimzahl von *A.a*. assoziiert stark mit der Aktivität der parodontalen Erkrankung. Eine Reduktion führt zu einer deutlichen Verbesserung der Erkrankung.

Die pathogenen Eigenschaften verdankt das Bakterium einer Reihe an Virulenzfaktoren wie z.B. den Fimbrien an der Zelloberfläche (Meyer et al. 1994). Diese filamentöse Oberflächenkomponente ermöglicht den Bakterien die Adhäsion an Epithelzellen, Fibroblasten, roten Blutkörperchen und auch das Eindringen in parodontale Gewebe, von wo die Keime nur schwer wieder zu entfernen sind (Fives-Taylor et al. 1999).

Zudem sind bestimmte Stämme vom Serotyp b (JP-2) in der Lage verstärkt Leukotoxin zu produzieren (Eggert et al. 2001). Leukotoxin behindert direkt das Immunsystem (Ezzo et al. 2001), indem es an Monozyten und polymorphkernige Leukozyten bindet. Durch die Schädigung der äußeren Zellmembran wird dann zunächst das osmotische Gleichgewicht gestört und schließlich kommt es zur Zellapoptose (Korostoff et al. 1998).

#### 1.2.2.2 *Porphyromonas gingivalis (P.g.)*

*P.g.* ist ein gram negatives, anaerobes, nicht-bewegliches Bakterium. Es gehört in die Kategorie der schwarz-pigmentierenden Spezies. Bei parodontal Gesunden ist der Keim in nur geringer Zahl nachweisbar (Ximenez-Fyvie et al. 2000).

Bei parodontal Erkrankten wird der Keim in erster Linie bei schwer chronischen und aggressiven Parodontitiden nachgewiesen.

Zu den Virulenzfaktoren von *P.g.* gehören ebenfalls Fimbrien an der äußeren Membran welche die Adhäsion an Epithel- und Endothelzellen vermitteln als auch die Invasion in parodontale Gewebe ermöglichen (Hirose et al. 2002). Zudem

führen die Fimbrien zur Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine (IL-1β, IL-6 und TNF-α ) (Ogawa et al. 1994).
Weitere Virulenzfaktoren sind Adhäsine, Lipopolysaccharide, Hämagglutinine, Proteasen sowie weitere Enzyme (Holt et al. 2002, Sojar et al. 2002).

#### 1.2.2.3 *Tannerella forsythensis (T.f.)*

*Tanerella forsythensis* gehört zu den gram negativen, nicht beweglichen Anaerobiern. Der Keim, insbesondere der Genotyp prtH, tritt vorwiegend bei der chronischen Parodontitis auf (Gersdorf et al. 1993) (Tan et al. 2001). Die Bakterien synthetisieren u.a. eine Trypsin-ähnliche Protease sowie Lipopolysaccharide die parodontale Gewebe zerstören (Greiner 1995, Ezzo et al. 2003).

#### 1.2.2.4 *Prevotella intermedia (P.i.)*

*Prevotella intermedia* ist ein anaerobes Bakterium welches ebenfalls zur Gruppe der schwarz-pigmentierenden Keime gezählt wird (Riggio et al. 1998). Über die Freisetzung von Lipopolysacchariden induziert *P.i.* wiederum die Freisetzung von IL-1β, IL-8 und IL-6 aus Fibroblasten, was eine Destruktion parodontaler Gewebe zu Folge hat (Takada et al. 1991). Zudem ist das Bakterium über Fimbrien in der Lage in das parodontale Bindegewebe einzudringen (Dorn et al. 1998).

#### 1.2.2.5 *Treponema denticola (T.d.)*

Bei *T.d.* handelt es sich um einen spiralförmigen, gram negativen, anaeroben Mikroorganismus der oftmals in Kombination mit *P.g.* und *T.f.* auftritt (Loesche et al., 1992, Socransky et al. 1998, Ximenez-Fyvie et al. 2000). Aufgrund seiner Virulenzfaktoren besteht eine starke Assoziation mit der parodontalen Erkrankung (Haffajee et al. 1994, Ximenez-Fyvie et al. 2000). Zu diesen Virulenzfaktoren gehören die Fähigkeit zur Produktion proteolytischer Enzyme sowie zytolytische Eigenschaften (Rosen et al. 1994, Mikx 1997, Sela 2001). Oberflächenproteine

verleihen *T.d.* zellapoptotische Eigenschaften (Mathers et al. 1996). Ein chymotrypsin-ähnlicher Protease-Komplex ermöglicht es dem Keim Fibroblasten als auch Epithelzellen abzutöten (Ishihara et al. 1996).

### 1.2.3 Therapie der Parodontitis

Die Parodontitistherapie beginnt zunächst mit der Hygienephase. Diese beinhaltet die Erstellung von 2 Mundhygieneindizes, einem Plaque-Index z.B. dem Approximalen Plaqueindex (API) sowie einem Blutungs-Index z.B. dem Sulcus Blutungsindex (SBI).
Anhand dieser Indizes können dem Patienten seine Schwachstellen in der häuslichen Mundhygiene veranschaulicht und geeignete Hilfsmittel gezeigt werden, um diese zu beseitigen. Es folgt eine professionelle Zahnreinigung zur Entfernung der harten und weichen supragingivalen Beläge.
Nach Abschluss der Hygienephase folgt die subgingivale mechanische Reduktion (Kürettage) der bakteriellen Beläge. Dies kann sowohl manuell mittels Handküretten als auch maschinell mit Hilfe von Schall- bzw. Ultraschallinstrumenten erfolgen.
Aufgrund der Wurzelmorphologie bzw. -rauheit ist es i.d.R. nicht möglich alle parodontalpathogenen Keime auf der Wurzeloberfläche zu entfernen. Dies bedeutet, dass ein Teil der Wurzeloberfläche auch nach erfolgter Kürettage kontaminiert bleibt (Umeda et al. 2004).
Bei schweren Parodontitiden liegen deshalb auch nach erfolgter Initialtherapie noch tiefe entzündete Taschen vor. Bei Sondierungstiefen von ≥ 6mm und gleichzeitigem BOP bzw. fortschreitendem Attachmentverlust besteht weiterer Handlungsbedarf. Je nach Anzahl und Lokalisation ist bei generalisierten Taschen eine chirurgische Taschenreduktion (Hung HC, Douglass 2002) sowie bei einzelnen Taschen ein lokales Antibiotikum (Salvi et. al. 2002) indiziert. Ziel der Parodontitistherapie ist die Elimination der Entzündung, um einen weiteren Verlust an parodontalem Gewebe zu verhindern.

## 1.3 Adjuvante Antimikrobielle Therapie

### 1.3.1 Systemische Anwendung

Die mechanische Entfernung des subgingivalen Biofilms gilt heutzutage immer noch als Goldstandard für die Therapie der entzündlichen Parodontopathien. In den meisten Fällen ist es ausreichend die supra- und subgingivalen Plaque und Konkremente mechanisch zu entfernen, um eine Parodontitis erfolgreich zu therapieren und damit die parodontale Destruktion aufzuhalten. Allerdings sind der Effektivität dieser Maßnahmen Grenzen gesetzt. Bei speziellen Formen der Erkrankung, wie z.B. der aggressiven und der schwer chronischen Parodontitis, erzielt der zusätzliche (adjuvante) Einsatz von Antibiotika bessere therapeutische Ergebnisse. Der Grund hierfür ist z.B. darin zu sehen, dass sowohl *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* als auch *Porphyromonas gingivalis* nicht nur die parodontalen Taschen sondern auch die angrenzenden parodontalen Gewebe besiedeln. Daraus können sie durch alleinige mechanische Therapie nicht mehr entfernt werden. Antibiotika sind niedermolekulare Stoffwechselprodukte von Bakterien und Pilzen, die schon in geringen Konzentrationen das Wachstum von Mikroorganismen hemmen oder Mikroorganismen abtöten können.

Als Voraussetzung für den größtmöglichen Erfolg von systemisch verabreichten Antibiotika gelten die weitgehende Entfernung des subgingivalen Biofilms sowie das Zerreißen bzw. Öffnen seiner geschlossenen Struktur durch mechanisches Debridement sowie ein vorausgegangener molekularbiologischer Test zur Ermittlung des Keimspektrums und damit zur Bestimmung des Antibiotikums mit höchstmöglicher Effizienz. Aufgrund der Biofilmstruktur der subgingivalen Plaque sollten Antibiotika möglichst zeitnah zur Kürettage eingenommen werden um eine optimale Wirkung zu erzielen.

Je nach Keimspektrum kommen verschiedene Antibiotika zum Einsatz, z.B.:

- Amoxicillin
- Metronidazol
- Ciprofloxacin
- Clindamycin

- Doxycyclin
- Tetracyclin
- Azithromycin

Bereits 1991 wurde von Winkelhoff ein nach ihm benannter „Winkelhoff Cocktail“ - eine Kombination aus Amoxicillin und Metronidazol - entwickelt (Van Winkelhoff et al.1991). Seither sind Antibiotika fester Bestandteil der Therapie von schweren Parodontopathien. Die Dosierungsempfehlungen wurden in den letzten Jahren allerdings leicht modifiziert.
Ein großer Nachteil der systemisch verabreichten Antibiotika sind die möglichen systemischen Nebenwirkungen welche von pseudomembranöser Kolitis, Schlaflosigkeit, Schwellungen, Urtikaria, Exanthemen bis hin zu anaphylaktischen Reaktionen bzw. anaphylaktischem Schock reichen. Aufgrund der Nebenwirkungen und der zusätzlich bestehenden Resistenzproblematik sollten systemische Antibiotika deshalb nur nach sorgfältiger Abwägung verordnet werden. Diese systemischen Nebenwirkungen sowie das Ziel einer erhöhten lokalen Verfügbarkeit des Antibiotikums in der Zahnfleischtasch, haben zu der Entwicklung lokaler Antibiotika bei lokalisierten Parodontopathien geführt.

### 1.3.2 Lokale Anwendung

Wie bei der systemischen Antibiotikatherapie ist das Ziel der lokalen antimikrobiellen Therapie eine größere effizientere Keimreduktion als durch alleinige mechanische Therapie. Um eine optimale Wirkung zu erzielen muss auch hier, unmittelbar vor Wirkstoffapplikation, der subgingivale Biofilm entfernt bzw. zerstört werden. Die subgingivale Appliaktion eines Wirkstoffes erwies sich allerdings als schwierig, da die parodontale Tasche einer ständigen Clearance unterliegt. Das Volumen einer 5 mm tiefen Tasche beträgt ca. 5 µl. Das darin enthaltene Sulkusfluid wird innerhalb einer Stunde ungefähr 40mal ausgetauscht (Goodson 2003). Entscheidend ist also, die Applikationsform so zu konzeptionieren, dass die Wirkstoffe in ausreichend hoher Konzentration über einen ausreichend langen Zeitraum in der Tasche verbleiben. Es ist daher erforderlich die Wirkstoffe an Trägersubstanzen zu koppeln, wie z.B. Gele, die in

der Tasche aushärten und so den Abtransport verlangsamen. Vorteile der lokalen Anwendung sind die hohe Wirkstoffkonzentration vor Ort sowie die geringen systemischen Nebenwirkungen. Optimal wären Arzneimittel die nur subgingival wirken und dabei keine systemischen Auswirkungen hätten.

#### 1.3.2.1 Lokales Antiseptikum Chlorhexidin

Chlorhexidin (CHX) ist ein wichtiger Bestandteil der chemischen Karies und Parodontitisprävention. Es handelt sich um ein positiv geladenes Bis-biguanidin welches sich an Rezeptoren in der Mundhöhle anlagert, so dass sich Slow-release-Depots bilden. So lassen sich z.B. nach einer nur einmaligen Spülung mit einer chlorhexidinhaltigen Mundspüllösung noch 24 Stunden später im Speichel erhöhte Chlorhexidinwerte nachweisen. Die Bakterienzahl ist noch 7 Stunden nach dem Spülen stark reduziert (Tomás 2010). In höheren Konzentrationen (100ppm) wirkt CHX über die Penetration in die Zellmembran von Bakterien bakterizid. Von Vorteil ist, dass es auch in geringen Konzentrationen (ca. 0,11ppm) zumindest noch bakteriostatisch wirkt. Der antibakterielle Effekt erstreckt sich über ein breites Spektrum sowohl grampositiver als auch gramnegativer Bakterien. Die anaeroben Bakterien der Parodontitis reagieren sensitiver auf CHX als aerobe. Bezüglich einer möglichen Resistenzbildung wurde festgestellt, dass auch der regelmäßige bzw. längere Gebrauch von CHX weder zu einem übermäßigen Wachstum von unerwünschten Mikroorganismen wie z.B. Hefepilzen führt, noch die Anfälligkeit der Mundflora gegenüber CHX reduziert wird. Mögliche Nebenwirkungen sind Geschmacksirritationen (salzig), Epithelabschilferungen und Parotisschwellungen sowie, in sehr seltenen Fällen, anaphylaktische Schockzustände. Es ist ein breites Spektrum an möglichen CHX-Applikationsformen kommerziell verfügbar z.B. Mundspüllösungen (0,1 - 0,2%CHX), Gele (0,5 - 1%CHX), Zahnpasten, Lacke und Zahnseide.

Chlorhexidinhaltige Mundspüllösungen mit einem CHX-Gehalt von 0,1 - 0,2% sind sehr gut zur Infektionsprophylaxe geeignet. Der Patient sollte dabei 30 min. nach dem Zähneputzen 2mal täglich 1 min. mit der Mundspüllösung spülen. Der Nachteil von Mundspüllösungen ist, dass sie in erster Linie supragingival wirken

und nur sehr wenig des Wirkstoffes nach subgingival gelangt. Weitaus effizienter im subgingivalen Milieu haben sich chlorhexidinhaltige Gele (CHX-Gehalt 0,5 – 1 %) erwiesen, welche mit einer stumpfen Kanüle direkt in die Tasche appliziert werden können. Das darin enthaltene Chlorhexidin bindet an die Zahnoberflächen, verhindert die Anhaftung von Bakterien und tötet diese ab. Aufgrund der Clearance-Problematik ist die Forschung ständig bestrebt neue, noch wirksamere Gele zu entwickeln. Eine dieser neueren Entwicklungen sind Xanthan-basierte-CHX-Gele. Bei dem seit kurzem erhältlichen Xanthan-Gel Chlosite (Zantomed Handels GmbH, Duisburg, Deutschland) wurde der Wirkstoff Chlorhexidin an den Trägerstoff Xanthan gekoppelt. Das mucoadhäsive Xanthan-Gel mit subgingivaler Haftung enthält 1,5 % CHX. Dank der speziellen Beschaffenheit des Geles ist über einen Zeitraum von 14 Tagen eine kontinuierliche Freisetzung von CHX nachweisbar. In einer Studie von 2009 erreichte die Kombination aus SRP und Chlosite im Vergleich zu SRP allein eine deutlich stärkere Reduktion der Taschentiefen und initial auch der parodontalpathogenen Keime (Paolantonio 2009).

Eine andere spezielle Form der CHX Applikation stellt der PerioChip (Dexxon Ltd., Hadera, Israel; Vertrieb: Dexcel Pharma GmbH, Alzenau, Deutschland) dar. Es handelt sich um einen 4 mal 5 mm kleinen Chip, welcher 2,5 mg Chlorhexidinbis (D-Glukonat) in einer biologisch abbaubaren Matrix aus hydrolisierter Gelatine enthält. Das Einbringen des Chips in die Tasche erfolgt mit einer Pinzette. Weitere Maßnahmen den Chip in situ zu halten sind nicht erforderlich. Auch hier ist die mechanische Zerstörung des Biofilms vor Chipapplikation wichtig. Trotz Taschen-Clearance durch Sulkusfluid soll eine ausreichend hohe CHX- Konzentration über einen Zeitraum von einer Woche erreicht werden. In einer klinischen Studien wurde eine signifikant stärkere Reduktion der Sondierungstiefen bei der Kombination von SRP und PerioChip im Vergleich zu SRP allein festgestellt (He L. 2001). Bei einer Untersuchung von Daneshmand konnte allerdings 4 Wochen nach der Therapie mit einem PerioChip kein Vorteil hinsichtlich der Reduktion der parodontalpathogenen Keime mehr festgestellt werden (Daneshmand 2002).

#### 1.3.2.2 Photodynamische Therapie (PDT)

In der Allgemeinmedizin zur Behandlung von infizierten Wunden und Tumoren eingesetzt, wird die photodynamische Therapie (PDT) nun auch in der Zahnmedizin, als neuer Ansatz einer antimikrobiellen Therapie im Rahmen der Parodontitistherapie, erforscht.

Die photodynamische Therapie beruht auf einer Trias unterschiedlicher Komponenten: Laserlicht bzw. Blaulicht, Sauerstoff und einem photoempfindlichen Farbstoff (Photosensitizer).

Der Farbstoff (Methylenblau oder Toluidinblau-O) wird in Form eines Gels in die Tasche appliziert, wo er an die Zellwand der Bakterien bindet. Die angefärbten Bakterien werden anschließend mit einem Laser bzw. Blaulicht bestrahlt, wodurch sich freie Sauerstoffradikale bilden. Diese führen zu einer oxidativen Schädigung der Bakterienzellwand und damit zum Zelltod.

Die Wirksamkeit der PDT für parodontalpathogene Keime konnte in vitro durch Kömerik et al. 2003, Matevski et al. 2003 und Pfitzner et al. 2004 belegt werden. Die PDT zeigte eine wirksame Reduktion der Parodontalpathogene *A.a., P.g., T.f.* und *P.i.* in Bakteriensuspensionen.

Die bisher vorliegenden in vivo Studien zeigen allerdings noch widersprüchliche Ergebnisse.

Braun zeigte eine signifikante Verbesserung von BOP und Attachmentlevel in der Testgruppe (SRP und PDT) gegenüber der Kontrollgruppe (SRP) (Braun et al., 2008).

A. Azarpazhooh stellte jedoch keine signifikante Verbesserung von SRP und PDT gegenüber SRP allein fest (Azarpazhooh et al., 2010). Erschwerend kommt hinzu, dass verschiedene PDT-Systeme auf dem Markt sind, die sowohl unterschiedliche Photosensitizer als auch Licht bzw. Laser unterschiedlicher Wellenlänge verwenden. Eine abschließende Beurteilung der Effizienz bzw. des möglichen Einsatzbereiches der PDT ist deshalb zum momentanen Zeitpunkt nicht möglich.

#### 1.3.2.3 Lokale Antibiotika

Eine weitere Möglichkeit der lokalen antimikrobiellen Therapie sind lokale Antibiotika.

Sie ergänzen die konventionelle, nicht-chirurgische Standardtherapie des subgingivalen Scalings. Lokale Antibiotika bei denen der Wirkstoff mit Hilfe einer Trägersubstanz in die Zahnfleischtasche eingebracht und dort über einen längeren Zeitraum kontinuierlich abgegeben wird, können zur Behandlung vereinzelter, immer wieder neu aufflammender Entzündungsprozesse angewendet werden. Die lokale Antibiotikagabe stellt dabei eine Alternative zur systemischen Antibiose mit all ihren Nebenwirkungen dar. Die Vorteile der lokalen Anwendung von Antibiotika werden in der sehr hohen Dosis des Wirkstoffes vor Ort, der geringen systemischen Belastung, der einfachen Anwendung sowie der geringen Wahrscheinlichkeit von Resistenzbildung gesehen.

## 1.4 Die Anwendung lokaler Antibiotika

Während der letzten Jahre sind verschiedene lokale Antibiotika für den Einsatz in infizierten Zahnfleischtaschen entwickelt worden.
Eine Übersicht verschiedener Produkte zeigt Tabelle 1.

**Tabelle 1:** Beispiele lokaler Antibiotika zur Therapie infizierter Zahnfleischtaschen

| **Wirkstoff** | **Handelsname** | **Trägerstoff** |
|---|---|---|
| Tetracyclin (25 %) | Actisite | Faser, nicht resorbierbar |
| Metronidazol (25 %) | Elyzol | Resorbierbares Gel |
| Doxycyclin (8,5 %) | Atridox | Resorbierbares Gel |
| Minocyclinhydrochlorid | Arestin | Bioresorbierbare Polymerkügelchen |
| Doxycyclin | Ligosan | Bioresorbierbare Hydrogel Matrix |

Bei dem Tetracyclinfaden Actisite (Alza Corp., Mountain View, CA, USA) handelt es sich um einen nicht resorbierbaren Kunststofffaden, der 25 %Tetracyclin-HCL enthält. Der Faden wird einmal vollständig um den Zahn gewickelt und dann bis zur tiefsten Stelle der Tasche nach unten gedrückt. Anschließend wird die parodontale Tasche durch sorgfältiges Übereinanderschichten des Fadens bis zum Zahnfleischrand gefüllt. Die Liegezeit des Fadens beträgt 7 bis 10 Tage. In einer Studie von 2004 konnte eine signifikant stärkere Reduktion von Bluten auf Sondieren sowie ein signifikant stärkerer Gewinn an klinischem Attachement bei der Kombination von SRP und Actisite im Vergleich zu SRP alleine festgestellt werden (Aimetti et al, 2004). Nachteile der Tetracyclinfäden waren die zeitaufwendige Applikation sowie der Verlust der Fäden, da diese häufig aus der Tasche ausgeschwemmt wurden. Zudem war ein zusätzlicher Termin für die Entfernung der Fäden notwendig. Diese Notwendigkeit der Entfernung hat in der Folge zur Entwicklung bioresorbierbarer Applikationsformen geführt. Die GABA GmbH als Vertriebspartner der ALZA Corporation in Deutschland hat zu Beginn

des Jahres 2002 die Tetracyclinfäden aufgrund von Lieferschwierigkeiten aus ihrem Sortiment genommen. Actisite ist daher in Deutschland nicht mehr kommerziell erhältlich.

Das Metronidazolgel Elyzol (Colgate Oral Pharmaceuticals, Hamburg) verfügt über einen bioresorbierbaren Medikamententräger. Bei Elyzol handelt es sich um ein resorbierbares Gel, welches aus 25 %igem Metronidazol-Benzoat in einem Gemisch aus Glyzeryl-Mono-Oleat und Sesamöl besteht. Vor der Anwendung muss das Gel nach Herstellerangaben aus zwei verschiedenen Zylinderampullen angemischt werden. Das fertige Gel wird dann mittels einer Applikationshilfe subgingival platziert. Bei Kontakt mit Sulkusfluid soll laut Herstellerangaben aus dem Gel eine hochvisköse Substanz entstehen, welche Metronidazol langsam in der Zahnfleischtasche freisetzt.
Verschiedene Untersuchungen zeigten allerdings, dass eine große Menge des Elyzols verschluckt oder durch die Mukosa absorbiert wird (erhöhte Plasmakonzentration 2 – 8 h nach Anwendung). In Kombination mit SRP waren keine signifikant besseren klinischen Ergebnisse im Vergleich zu SRP alleine festzustellen (Salvi 2002).

Bei Atridox (CollaGenex Pharmaceuticals, Newton, PA, USA; Vertrieb: Atrix Laboratories GmbH, Bad Homburg) handelt es sich um ein Doxycyclin-Polymer welches aus 10 % Doxycyclin, 33 % Poly-DL-Laktid und 57 % NMD (N-methyl-2-Pyrrolidon) zusammengesetzt ist. Atridox muss vor der Anwendung aus Doxycyclinpulver und einer Polymerflüssigkeit angemischt werden. Das entstandene Gel wird mithilfe einer stumpfen Applikationsspritze in die parodontale Tasche eingebracht. Laut Walker et al 2000 reduzierte die lokale Behandlung mit Doxycyclin die Anzahl anaerober Mikroorganismen in der subgingivalen Plaque signifikant. Eine Entstehung von Resistenzen bzw. eine Zunahme resistenter Keime konnte nicht beobachtet werden (Walker et al. 2000).
Atridox wurde 2006 aus dem Handel genommen.

Seit Oktober 2010 ist mit Ligosan slow release Gel (Heraeus Kluzer GmbH, Hanau, Deutschland) ein Doxycyclinpräparat zur adjuvanten Therapie chronischer und aggressiver Parodontitis auf dem deutschen Markt erhältlich. 1 g Gel enthält

140 mg Doxycyclin bzw. 161,5 mg Doxycyclinhyclat. Zur Behandlung kommen Zylinderkartuschen mit 260 mg Gel zum Einsatz. Eine Zylinderkartusche ermöglicht die Therapie von 4 – 5 Zahnfleischtaschen. Eine bundesweite Anwendungsbeobachtung nach AMG läuft seit März 2010.

Auch bei der lokalen Anwendung von Antibiotika können mögliche lokale Nebenwirkungen, wie z.B. Zahnschmerzen, Schwellungen des Zahnfleisches und Candidainfektionen, oder auch systemische Nebenwirkungen, wie z.B. Kopfschmerzen und Dyspepsie, auftreten. Lokale Antibiotika bei denen der Wirkstoff mit Hilfe einer Trägersubstanz kontinuierlich über einen längeren Zeitraum in die Zahnfleischtasche abgegeben wird können zur Behandlung vereinzelter, immer wieder neu aufflammender Entzündungsprozesse angewandt werden (Goodson, 1994). Die lokale Applikation ohne Trägersubstanz erlaubt keine standardisierte Freisetzung des Antibiotikums und kann die Entwicklung von Resistenzen begünstigen (Slot und Jörgensen, 2002). Einer der Hauptgründe für die Dominanz der systemischen Antibiotika ist die mangelnde Effizienz der kommerziell erhältlichen Produkte an lokalen Antibiotika, die primär auf die Verwendung ungeeigneter bzw. suboptimaler Trägerstoffe zurückzuführen ist. Mit Arestin ist nun ein lokales Antibiotikum auf dem Markt, das in ersten Studien erfolgsversprechende Ergebnisse erzielen konnte (Williams et al. 2001).

## 1.5 Wissenschaftliche Fragestellungen

Kann die Kombination aus SRP und anschließender Antibiotika-Therapie bei Taschen, die nach abgeschlossener Initialtherapie weiterhin Blutung bzw. einen Attachmentverlust aufweisen, die Zahl der parodontalpathogenen Bakterien stärker reduzieren als erneut durchgeführtes SRP allein?

Kann die Kombination aus SRP und anschließender Antibiotika-Therapie bei Taschen, die nach abgeschlossener Initialtherapie weiterhin Blutung bzw. einen Attachmentverlust aufweisen, die Taschentiefen stärker reduzieren als SRP allein?

Kann die Kombination aus SRP und anschließender Antibiotika-Therapie bei Taschen, die nach abgeschlossener Initialtherapie weiterhin Blutung bzw. einen Attachmentverlust aufweisen, die klinischen Entzündungsparameter (Plaque-Index, Gingival-Index, Pussuppuration) stärker reduzieren als SRP allein?

# 2. Material und Methode

## 2.1 Arestin

Das lokal applizierbare Antibiotikum Arestin (Arestin$^{TM}$, OraPharma, Inc., Warmister, PA, USA), welches zur Behandlung von Zahnfleischentzündungen verabreicht wird, enthält den Wirkstoff Minocyclinhydrochlorid. Das Minocyclin ist in kleinen Kügelchen (Mikrospheres) aus biologisch abbaubarem Polyglykolid-co-DL-Laktid (PGLA) eingekapselt bzw. eingebaut. Jede Einzeldosis enthält 1 mg Minocyclinhydrochlorid. Das Minocyclinhydrochloridpulver wird nach relativer Trockenlegung der zu behandelnden Stelle mittels eines Applikators subgingival in die Tasche appliziert. Bei der hydrolytischen Degradation der Polymerkügelchen wird das Minocyclin langsam freigesetzt. Die Strukturformel ($C_{23}H_{27}N_3O_7$.HCL) von Minocyclinhydrochlorid ist in Abbildung 2 dargestellt.

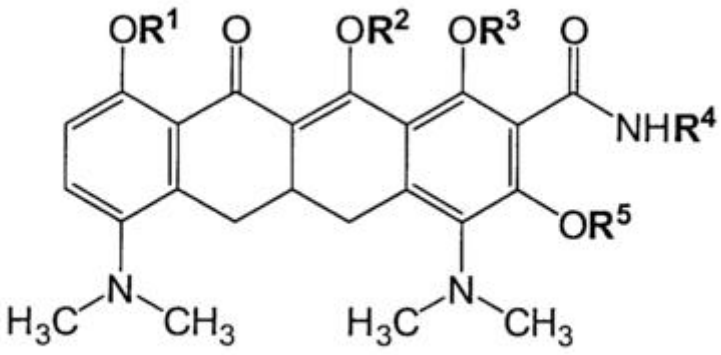


**Abbildung 2:** Strukturformel Minocyclinhydrochlorid

Minocyclin zählt zur Gruppe der Tetrazykline. Es handelt sich um ein Breitbandantibiotikum, das auf Bakterien bakteriostatisch wirkt in dem es die Proteinsynthese hemmt. Es gelangt durch energieabhängige Transportsysteme in die Bakterienzelle, wo es an die ribosomale 30-S-Untereinheit bindet und die Bindung von Aminoacyl-tRNA an der Akzeptorstelle am mRNA-Ribosomen-Komplex behindert. Die Proteinsynthese ist somit unterbrochen und es bleiben Polypeptidstücke zurück. *In vitro* Studien haben gezeigt, dass die PA-Erreger

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans (A.a.), Porphyromonas gingivalis (P.g.)* und *Prevotella intermedia (P.i.)* ab einer Konzentration von ≥ 8µg/ml² anfällig auf Minozyklin sind (Rams et al., 1996).

Neben der antibakteriellen Wirkung besitzt Minocyclin aber auch einen antiinflammatorischen Effekt und hemmt zudem Kollagenasen. Nach dem Einbringen von Arestin in die Tasche wird Minocyclin in die Gingival-Flüssigkeit der Zahnfleischtasche freigesetzt, wo die erforderliche Wirkstoffkonzentration über mindestens 14 Tage aufrechterhalten wird. Dieser Effekt wird dadurch erreicht, dass das Minocyclin in Polymerkugeln gebunden ist und durch den Kontakt mit der Gingivaflüssigkeit langsam aber konstant freigesetzt wird. Nach etwa 30 Tagen sind die Polymerkugeln vollständig zu Kohlenstoffdioxid und Wasser abgebaut (Williams et al., 2001). Abbildung 3 zeigt den Applikator, Abbildung 4 das Einzeldosisbehältnis mit Arestinpulver und Abbildung 5 den Applikator mit montierter Kapsel/Einzeldosisbehältnis.



**Abbildung 3:** Applikator

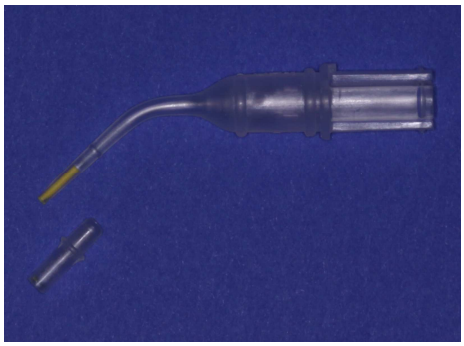

**Abbildung 4:** Einzeldosisbehältnis mit Arestinpulver



**Abbildung 5:** Applikator mit montierter Kapsel/Einzeldosisbehältnis

## 2.2 Florida-Probe

Mit der Florida-Probe-Software (Version 7.2.1) ist es möglich, eine digitale Datenbank von jedem Patienten mit seinen persönlichen Daten anzulegen, einen Parodontalstatus (Abbildung 8) zu erstellen und die im weiteren Verlauf der Behandlung erhobenen Messwerte mit diesem zu vergleichen. Die Florida-Probe besteht aus einer Meßsonde sowie einem Fußpedal, welche über ein Interface mit dem PC verbunden sind. Zunächst werden die fehlenden Zähne des Patienten in dem Zahnstatus der Software gelöscht. Die Taschensondierungstiefen werden mechanisch mit der Meßsonde ermittelt, anschließend in ein elektronisches Signal umgewandelt und über die Software an entsprechender Stelle im digitalen Parodontalstatus gespeichert (Abbildung 7). Blutung auf Sondieren und/oder Suppuration wird durch drücken der roten bzw. gelben Taste am Fusspedal im digitalen Parodontalstatus notiert. Weitere wichtige klinische Parameter wie z.B. Furkationsgrade, Lockerungsgrade, mukogingivale Linie und Rezessionen können

ebenfalls gespeichert werden. Im Anschluß an die klinische Untersuchung wird der Parodontalstatus noch um die Diagnose sowie Datum, Uhrzeit und Untersucher ergänzt.

Im Rahmen dieser Studie wurden folgende Einstellungen im Setup der Florida-Probe festgelegt:

- Messung der Sondierungstiefen an 6 Meßstellen pro Zahn (mb, b, db, ml, l, dl)
- Bluten auf Sondieren bzw. Suppuration an den jeweiligen Stellen
- Furkationsbefall
- Lockerungsgrade
- mediane Rezession

Eine ausführliche Anleitung der Florida Probe finden sie im Anhang.

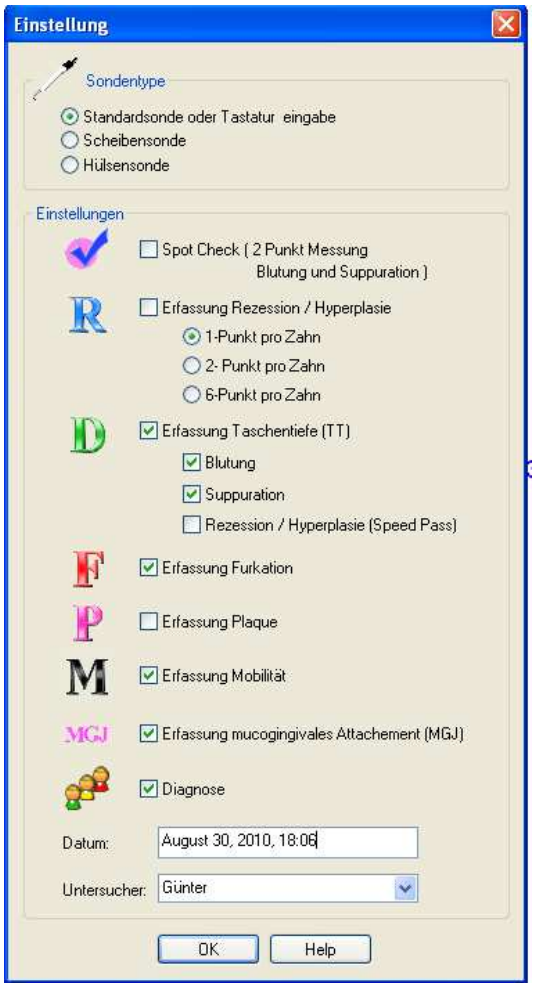


**Abbildung 6:** Screenshot Florida-Probe: Eingabe der Einstellungen

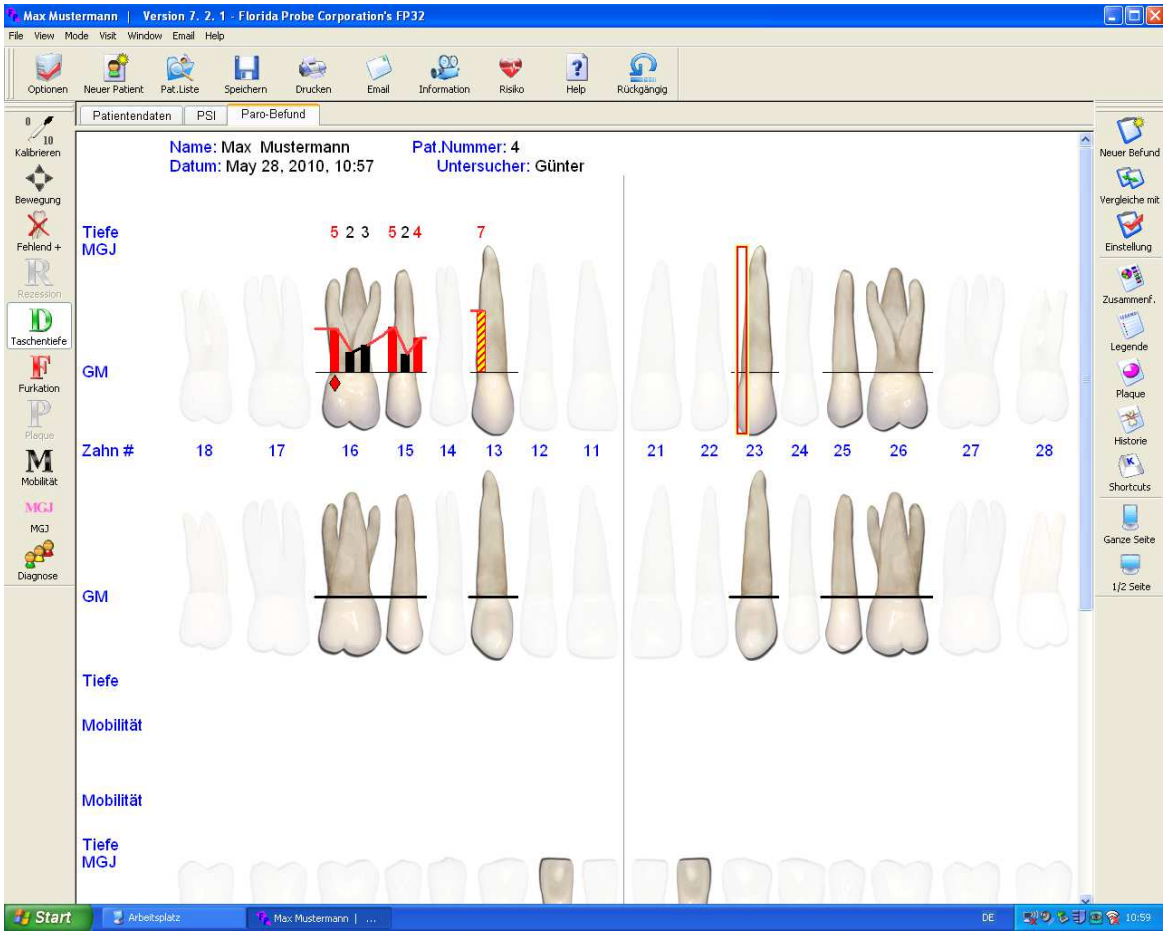


**Abbildung 7:** Screenshot Florida-Probe: Die Software notiert die Sondierungstiefen

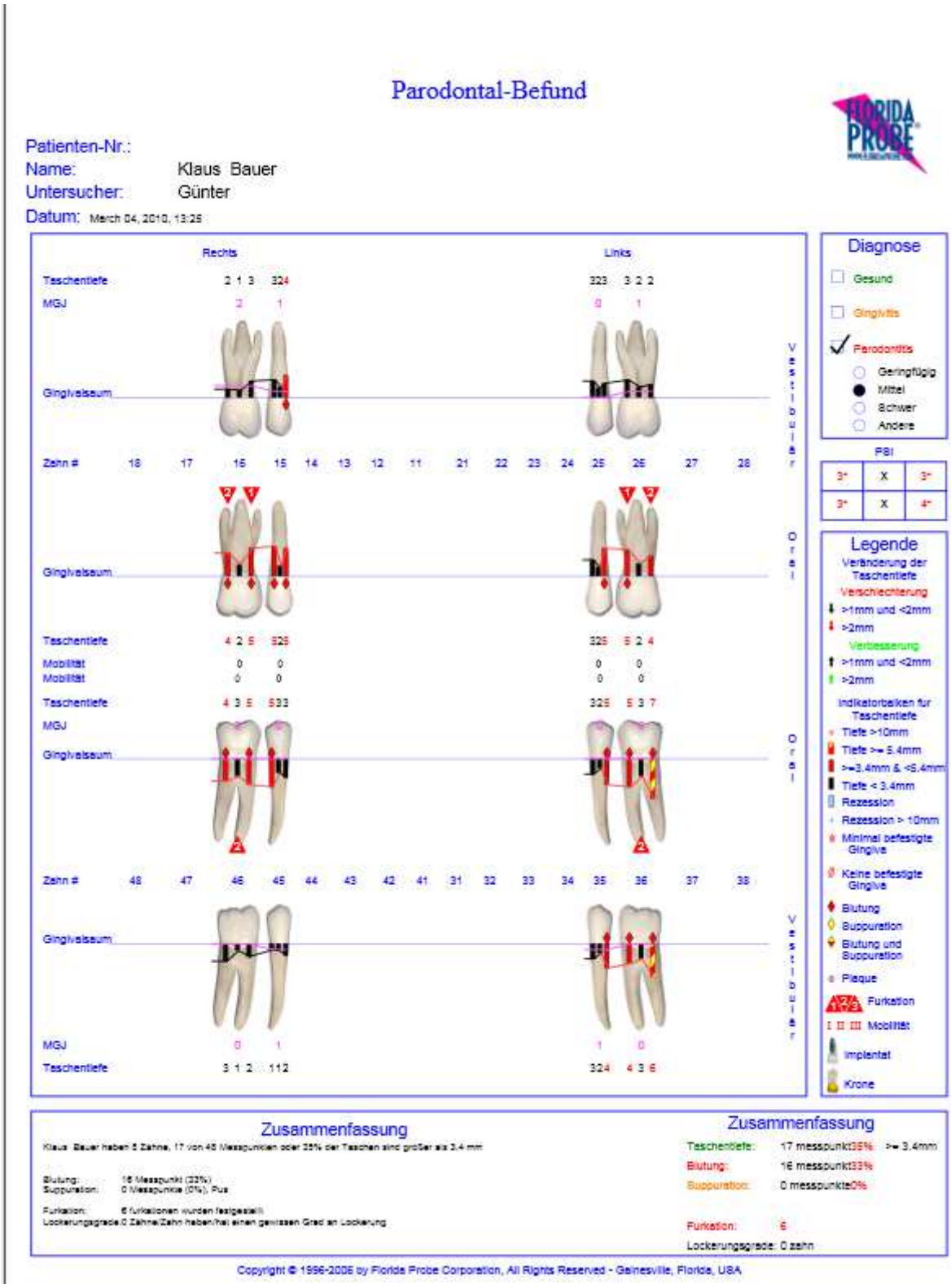


**Abbildung 8:** Screenshot Florida-Probe: Parodontal-Status

Unter Setup Options, Parodontal-Daten wurde zusätzlich zu den Standardeinstellungen die Kontroll-Doppelmessung aktiviert. Diese Einstellung sorgt dafür, dass jeder Messung ein zweiter Durchgang folgt, bei dem die erste Messung mit der zweiten verglichen wird. Die maximal akzeptable Differenz dieser beiden Taschentiefen wurde auf < 0,6 mm (Abbildung 9) eingestellt.

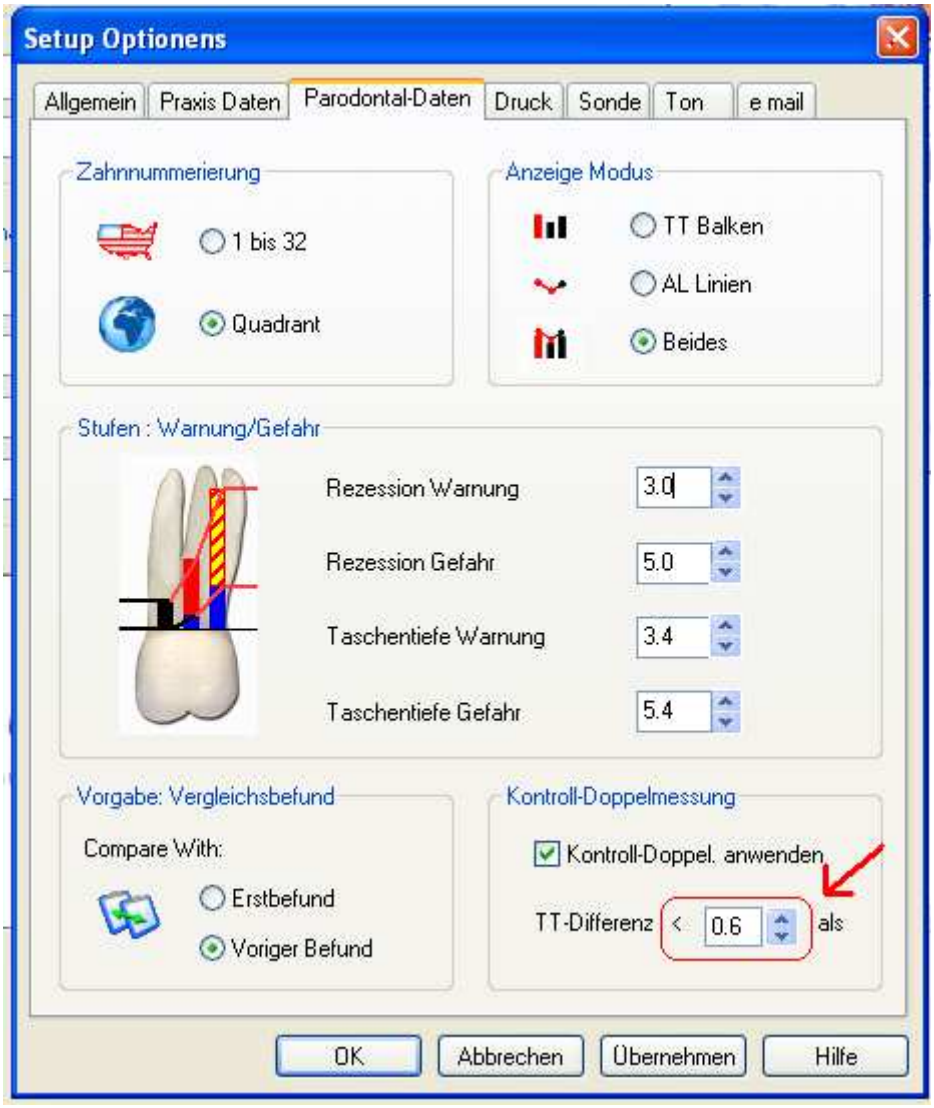


**Abbildung 9:** Screenshot Florida-Probe: Kontroll-Doppelmessung auf Taschentiefendifferenz <0,6mm eingestellt (roter Pfeil)

## 2.3. Lokalanästhesie

Die Parodontitistherapie wurde unter lokaler Anästhesie der behandelten Zähne durchgeführt. Im Oberkiefer erfolgte an jedem Zahn eine Infiltrationsanästhesie mit circa 0,5 - 1ml Ultracain D-S (Ultracain D-S 1:200000, Sanofi Aventis, Frankreich). Die Anästhesielösung wurde dabei in die Umschlagfalte appliziert. Im Unterkiefer wurde zur Anästhesie des Nervus alveolaris inferior eine Leitungsanästhesie gelegt. Da keine systemischen Allgemeinerkrankungen oder Allergien auf das Lokalanästhetikum vorlagen, die eine Verwendung von Ultracain D-S ausgeschlossen hätten, musste kein Ausweichpräparat herangezogen werden. In vielen Fällen erfolgte die Behandlung auf Wunsch der Patienten auch ohne Anästhesie.

## 2.4 Studiendesign

### 2.4.1 Patientenrekrutierung

In der Zahnklinik des Universitätsklinikums Ulm wurden 11 Patienten, 5 Frauen und 6 Männer, die an einer leichten oder mittelschweren chronischen Parodontitis erkrankt sind und nach der Initialtherapie noch Taschentiefen von ≥ 5 mm mit Blutung bzw. Attachmentverlust aufweisen, rekrutiert.
Weitere Einschlusskriterien waren gute Mundhygiene, API ≤ 40 %, SBI ≤ 25 % und vergleichbare Sondierungstiefen an entsprechenden Zähnen im kontralateralen Quadranten des gleichen Kiefers.
Bei Molaren war zudem ein Furkationsbefall Grad II Voraussetzung. Die Studie wurde im Split-Mouth-Design durchgeführt. Dies bedeutet, dass die Tasche eines bestimmten Zahnes des einen Quadranten mit der Tasche des entsprechenden Zahnes des kontralateralen Quadranten des gleichen Kiefers verglichen wird. So wurde z.B. die mesio-bukkale Tasche des oberen rechten Eckzahnes (13) mit der mesio-bukkalen Tasche des oberen linken Eckzahnes (23) verglichen usw. Zu dieser Studie waren nur Zahnpaare mit ST ≥ 5mm und BOP mit einer maximaler Differenz der bilateralen Defekte von ± 1mm zugelasen.

Unter die Ausschlusskriterien fielen Patienten mit Taschentiefen < 5 mm, API >40 % oder SBI > 25%, Zähne mit Furkationsbefall Grad I oder III oder Patienten unter 18 Jahren oder Einnahme von Antibiotika innerhalb der letzten 6 Monate vor der Baseline-Untersuchung. Ebenfalls ausgeschlossen wurden Patienten mit Endokarditisrisiko, nach oder unter Bisphosphonattherapie, mit Blutgerinnungsstörungen, Antikoagulantientherapie, mit Leber- oder Nierenfuktionsstörung, Magen-Darm-Erkrankungen sowie geistig behinderte Patienten, Schwangere oder sich in der Stillzeit befindende Frauen und Raucher.
Auf diese Weise wurden 20 Zahnpaare einwurzliger Zähne und 15 Zahnpaare mehrwurzliger Zähne identifiziert.
Alle Patienten wurden über den Ablauf der Studie informiert und gaben ihr schriftliches Einverständnis. Die Durchführung der Studie wurde durch die Ethikkommission der Universität Ulm (*Antrag Nr. 310/09)* genehmigt.

### 2.4.2 Professionelle Zahnreinigung und Abformungen

Zwei Wochen vor der Baseline-Untersuchung wurde zunächst eine professionelle Zahnreinigung zur Entfernung supragingivaler Beläge durchgeführt. Es erfolgten Mundhygieneinstruktionen und die Patienten wurden angehalten über die gesamte Studiendauer eine gute Mundhygiene beizubehalten. Zudem wurden Alginatabformungen von Ober- und Unterkiefer zur Herstellung von Tiefziehschienen im zahntechnischen Labor angefertigt. Die Tiefziehschienen wurden aus 1 mm starkem Kunststoff (Erkodur, Erkodent Erich Kopp GmbH, Pfalzgrafenweiler, Deutschland) hergestellt und anschließend bis auf Höhe des Zahnäquators gekürzt. Mit Hilfe heißer Instrumente wurden terrassenförmige Stopps an den zu untersuchenden Zähnen angebracht. Diese Stopps (Abbildungen 10 und 11) dienten als konstanter Referenzpunkt zur Bestimmung des klinischen Attachmentlevels (CAL).





**Abbildung 10 und 11:** terrassenförmigen Stopps der Tiefziehschienen (schwarz markiert)

### 2.4.3 Therapie

Im Anschluss an die Baseline-Untersuchung (siehe 2.4.4 Diagnostik) wurden subgingivale Plaqueproben aus den zu vergleichenden Zahnfleischtaschen zur qualitativen und quantitativen Ermittlung des Bakterienspektrums entnommen. Im Anschluss daran erfolgte dann die Therapie. Die Zähne der Zahnpaare wurden randomisiert (durch Münzwurf) in eine Test und eine Kontroll-Gruppe eingeteilt. Die Kontroll-Gruppe wurde durch SRP (Schallinstrument: Sonicflex 2003L mit PA-Spitzen, KaVo Dental GmbH, Biberach, Deutschland; Gracey-Küretten: Hu-Friedy Mfg. B.V., Rotterdam, Niederlande) und anschließender Taschenspülung mit steriler NaCl-Lösung therapiert.

Nach Beendigung der instrumentellen Therapie wurden erneut subgingivale Plaqueproben entnommen. Anschließend wurden die Zähne der Test-Gruppe

(zusätzlich zu SRP) mit dem lokalen Antibiotikum Arestin behandelt, welches mit Hilfe des Applikators (Abbildung 12) subgingival appliziert wurde.



**Abbildung 12:** Applikation Arestin

### 2.4.4 Diagnostik

Alle klinische Paramater wurden jeweils zu Baseline, ein Monat, drei Monate und sechs Monate nach Therapie bestimmt. Dies waren Sondierungstiefe (ST), relativer klinischer Attachmentlevel (CAL), Gingivaindex (GI) und Plaqueindex (PI) nach Silness und Löe, Bleeding on Probing (BOP) und/oder Pusentleerung. Zusätzlich hielt der Untersucher die Rezessionen an den medianen Zahnflächen fest.

**Tabelle 2:** Beschreibung der klinischen Messgrößen ST, CAL, ΔCAL und Rezession

| | |
|---|---|
| ST | Distanz Gingivarand – Taschenfundus |
| CAL | Stopp auf Schiene – Taschenfundus |
| ΔCAL | Berechnung: CAL zur Baseline-Untersuchung minus CAL zu den Untersuchungszeitpunkten |
| Rezession | Schmelz-/Zementgrenze – Gingivarand |

**Legende:**

ST: Sondierungstiefe

CAL: klinischer Attachmentlevel

ΔCAL: Änderung des Attachmentlevels

Die Erhebung der klinischen und mikrobiologischen Parameter und die Durchführung der Parodontaltherapie wurden von zwei verschiedenen Personen, die keine Kenntnis der Therapieart des Anderen hatten, durchgeführt. Es handelt sich hierbei folglich um eine Blindstudie. Dieses Verfahren stellt sicher, dass eine unvoreingenommene und objektive Diagnostik, bzw. Bestimmung der Messparameter, gegeben ist.

Gingivaindex und Plaqueindex nach Löe und Silness (Tabelle 3, Tabelle 4) wurden mit der WHO-Sonde (PCP11.5B6, Hu-Friedy Mfg. B.V., Rotterdam, Niederlande) erhoben.

**Tabelle 3:** Einteilung der Grade des Gingivaindex nach Silness und Löe (1964)

| | |
|---|---|
| 0 | Normale Gingiva, keine Entzündung, keine Verfärbung, keine Blutung |
| 1 | Geringe Entzündung, leichte Farbänderung, geringe Oberflächenveränderung, keine Blutung |
| 2 | Mäßige Entzündung, Blutung auf Sondieren und auf Druck |
| 3 | Starke Entzündung, starke Rötung und Schwellung, Tendenz zu Spontanblutungen, eventuell Ulzeration |

**Tabelle 4:** Einteilung der Grade des Plaqueindex nach Silness und Löe (1964)

| | |
|---|---|
| 0 | Keine Plaque |
| 1 | Dünner Plaquefilm am Gingivarand, nur erkennbar durch Abstreichen der Sonde |
| 2 | Mäßig Plaque entlang dem Gingivarand, Interdentalräume frei, mit dem Auge erkennbar |
| 3 | Viel Plaque entlang dem Gingivarand, Interdentalräume mit Plaque gefüllt |

Jeder Patient wurde mit Name, Alter und Geschlecht in einer Datenbank der Florida-Probe Software angelegt.
Nach Anschluß der Florida-Probe Hardware (Messonde, Fusspedal) an den Computer wurden die zuvor erwähnten klinischen Parameter ermittelt.

Die Untersuchung startete mit der Standardsonde (Abbildung 13) und der Erfassung von Sondierungstiefen, BOP und/oder Suppuration.
Nach Abschluß des ersten Messdurchgangs wurde der zweite Durchgang, zur Verifizierung des ersten Messdurchgangs, durchgeführt. Bei Abweichungen (maximaler Differenzwert) > 0,6 mm forderte das System einen weiteren Messdurchgang. Erst wenn die letzte Messung innerhalb der Toleranz lag, rückte das Programm zur nächsten Messstelle vor.
Nach Erfassung der Sondierungstiefen (Abbildung 15) wurde mit Hilfe einer Naber-Sonde (PQ2N, Hu-Friedy Mfg. B.V., Rotterdam, Niederlande) der Furkationsbefall an mehrwurzeligen Zähnen ermittelt und mit Hilfe der Computer Tastatur eingefügt. Auch die Lockerungsgrade sowie die medianen Rezessionen wurden mit einer Millimetersonde (PCP UNC15, Hu-Friedy Mfg. B.V., Rotterdam, Niederlande) ermittelt und auf dieselbe Weise im Programm festgehalten.
Im letzten Durchlauf wurde die Standardsonde durch die Hülsensonde (Abbildung 14) ersetzt und der Patient bekam die im Labor angefertigte Schiene eingesetzt. Anschließend wurde das relative Attachmentlevel (Abbildung 16), die Taschentiefe relativ zur Oberkante der Stopps, gemessen. Auch diese Messung wurde durch Kontrollmessungen, wie oben beschrieben, verifiziert.

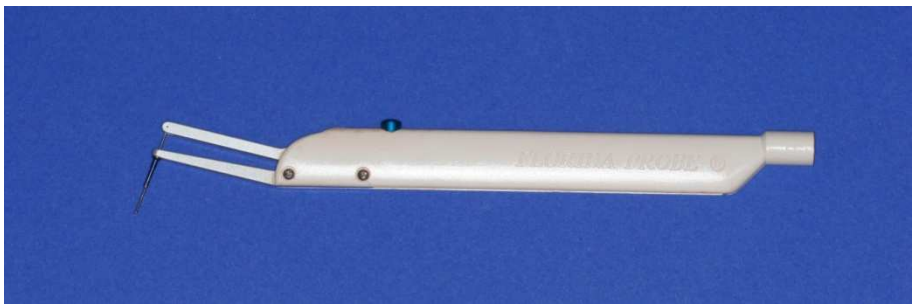

**Abbildung 13:** Standardsonde

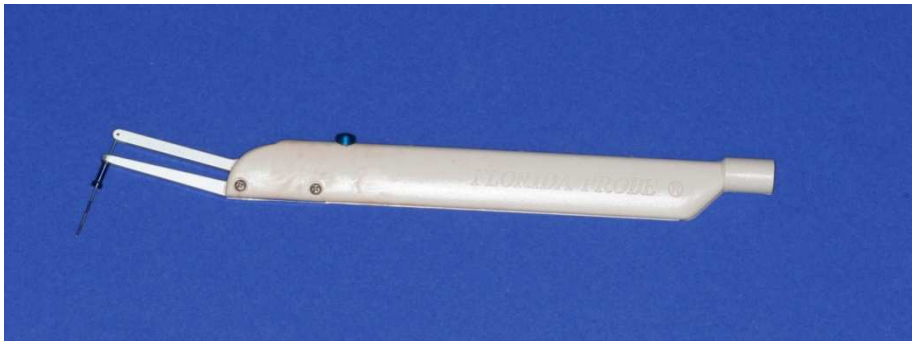


**Abbildung 14:** Hülsensonde



**Abbildung 15:** Messung ST mit der Standardsonde

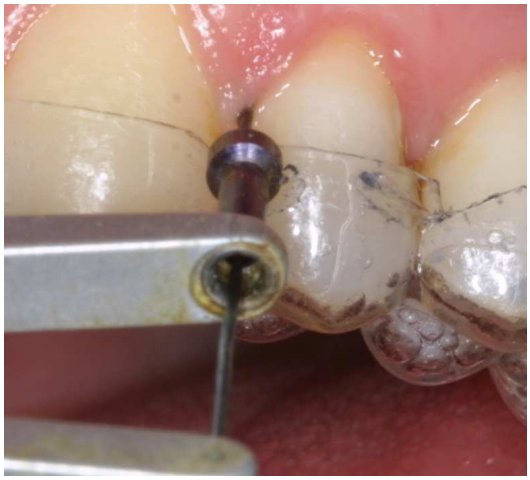

**Abbildung 16:** Messung CAL mit der Hülsensonde und eingesetzter Tiefziehschiene mit terassenförmigen Stopps

Zur Baseline, direkt nach Therapie sowie eine Woche, ein Monat, drei Monate und sechs Monate nach Therapie wurde zudem an jedem Zahn, der zu untersuchenden Zahnpaare, eine mikrobiologische Untersuchung der subgingivalen Plaque durchgeführt.
Hierfür wurde nach relativer Trockenlegung und supragingivaler Reinigung eine subgingivale Plaqueprobe entnommen. Zur Entnahme der Plaqueprobe wurden in jede zu untersuchende Zahnfleischtasche 2 sterile Papierspitzen (Papierspitzen ISO 40, VDW GmbH, München, Deutschland) bis zum Taschenfundus eingeführt und dort für 10 sec. belassen. Anschließend wurden die Papierspitzen entnommen, in einem Eppendorf – Reaktionsgefäß 2,0 ml gepoolt und bis zur mikrobiologischen Analyse bei -20°C aufbewahrt.

## 2.5. Realtime PCR

Die Quantifizierung von ausgewählten Parodontitis-Leitkeimen erfolgte in dieser Studie mittels des RTP-Paro-Test5 im Labor für Orale Mikrobiologie des Universitätsklinikums Ulm (RTP Paro-Test 5, Labor für orale Mikrobiologie, Universitätsklinikum Ulm, Ulm, Deutschland). Dieser Test beruht auf einem quantitativen Real-Time PCR-Verfahren (qRT-PCR), wobei nach Reinigung der DNA (Nexttec Genomic DNA from bacteria, Leverkusen) aus subgingivaler Flüssigkeit (Probenentnahme mittels Antaos-Papierfilterspitzen, Größe 40), die Keimzahl der Parodontitis-Leitkeime *Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythensis, Prevotella intermedia* und *Treponema denticola* bestimmt wird.
Die Grundlage des RTP-Paro-Test 5 basiert auf der PCR-Amplifikation (polymerase chain reaction) eines bestimmten DNA-Abschnitts der 16S rDNA der entsprechenden Keime mit Hilfe nicht-markierter Gen-spezifischer Primer und Farbstoff-markierter Gen-spezifischer PCR-Sonden (Biomers net, Ulm). Die Quantifizierung fand durch ein TaqMan®-Sondensystem mit dem IQ5-System (Biorad, München) statt. Dabei wird in Echtzeit der Erfolg der qRT-PCR durch ein FRET-Prinzip (fluorescence resonance energy transfer) detektiert. Grundsätzlich reagiert bei FRET ein Fluoreszenzfarbstoff (in dieser Arbeit: 6-FAM oder HEX) auf eine Anregung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge z.B. 488 nm (6-FAM) oder

535 nm (HEX) mit einer Emission von Licht einer höheren Wellenlänge, z.B. 516 nm (6-FAM) oder 556 nm (HEX). Für diese Arbeit wurde der Fluoreszenzfarbstoff 6-FAM oder HEX synthetisch an das 5´-Ende der Gen-spezifischen PCR-Sonde verlinkt. Zusätzlich befand sich am 3´-Ende derselben Sonde der Black Hole Quencher BHQ1, welcher Licht des Spektrums 490-600 nm absorbiert. Auf Grund der räumlichen Nähe des Fluoreszenzfarbstoffs zu dem Quencher, fand eine detektierbare Lichtemission des Farbstoffs nur statt, falls dieser vom Quencher getrennt wurde. Dieser Zustand wurde während der Elongationsphase der PCR erreicht. Hier verlängert die *Taq*-DNA-Polymerase, ausgehend von den hybridisierten Primern, das entstehende PCR-Produkt in 3´-Richtung. Auf Grund der 5´-3´-Exonukleaseaktivität der Polymerase und der Tatsache, das die Hybridisierungsstelle der Sonde zwischen den Stellen der Primer gewählt wurde, resultierte aus der Amplifikation eine Hydrolyse der Sonde und dadurch auch eine räumliche Trennung von Fluoreszenzfarbstoff und Quencher. Mit Hilfe einer Lichtanregung entsprechender Wellenlänge, konnte eine erfolgreiche Amplifikation an Hand des emittierten Fluoreszenzsignals mittels einer CCD-Kamera detektiert werden.

Für die Quantifizierung der fünf Keime wurden PCR-Produkte mit ähnlichen Größen in der qRT-PCR vermehrt (*A. a.* 79 Bp., *P.g.* 150 Bp., *T.f.* 87 Bp., *P.i.* 102 Bp., *T.d.* 121 Bp.). Um gleiche Bedingungen aller Proben, sowohl aus der Test- als auch aus der Kontrollgruppe zu gewährleisten, wurden in einem primären separaten PCR-Lauf zu allen Proben $10^6$ synthetisch-hergestellte Kopien des *cfb*-Gens von *Streptococcus agalactiae* gegeben und die $C_T$-Werte (cycle threshold = PCR-Zyklus mit messbarem Fluoreszenzanstieg) ermittelt. An Hand des Vergleichs der $C_T$-Werte der Amplifikation der *cfb*-DNA zusammen mit der Proben-DNA zu der *cfb*-DNA allein, wurde letztendlich überprüft, ob störende PCR-Inhibitoren in den Proben vorlagen. Dies war jedoch nach doppelter Reinigung der DNA mit 2 Nexttec-Säulen nicht der Fall.

Weiterhin wurden die Keime aller 6 Therapiezeitpunkte eines Zahnpaares (Vergleich zwischen Test- und Kontrollgruppe) auf einer 96-Well-Platte an Hand der $C_T$-Werte zu einer mitlaufenden DNA-Standardreihe quantifiziert. Die PCR der DNA-Standardreihe wurde als Doppelbestimmung mit $10^9$-$10^2$ Kopien der 16S rDNA des entsprechenden Keims (10er Verdünnungsstufen) durchgeführt. Die Korrelation der Fluoreszenzsignale zu der Konzentration der Leitkeime fand durch

absolute Quantifizierung der $C_T$-Werte der Proben-DNA durch die $C_T$-Werte der DNA-Standardreihe statt. Ausgehend von den $C_T$-Werten der DNA-Standardreihe wurde eine Regressionsgerade erstellt. Dafür mussten die gemessenen $C_T$-Werte gegenüber dem Logarithmus der DNA-Konzentrationen der DNA-Standardreihe aufgetragen und die Effizienz der PCR ($E = 10^{(-1/Geradensteigung)}-1$) errechnet werden. Der Medianwert von E aus der PCR aller Proben lag bei 93,5 %.

## 2.6 Statistische Auswertung

Bei der deskriptiven Auswertung der klinischen und mikrobiellen Messergebnisse wurden bei den metrischen Zielgrößen ST, CAL und den Keimzahlen Boxplots der Mediane erstellt. Bei den kategorischen Zielgrößen wie BOP, GI und PI wurden grafische Darstellungen von relativen Häufigkeitsverteilungen verwendet.
Zur statistischen Untersuchung der klinischen und mikrobiellen Messergebnisse wurde für jede Zielgröße ein Generalized-Estimation-Equation-Modell mit den Einflussgrößen Behandlungsgruppe, Zeitpunkt, Geschlecht, Alter und Wurzligkeit (einwurzlig/mehrwurzlig) angepasst. Als Signifikanzniveau wurde 5% festgelegt. Die Berechnung erfolgte im Institut für Epidemiologie und Medizinische Biometrie der Universität Ulm unter Verwendung der Statistiksoftware SAS, Version 9.2. unter Windows XP. Statistiker war Herr Dr. Dreyhaupt.

# 3. Ergebnisse

## 3.1 Deskription des Kollektivs

### 3.1.1 Anzahl, Lebensalter und Geschlecht der Patienten

**Tabelle 5:** Anzahl, Lebensalter und Geschlecht der im Rahmen der Studie 2010 am Universitätsklinikum Ulm behandelten Patienten mit persistierender Entzündung bei mittelschwerer chronischer Parodontitis.

| | männlich | weiblich | gesamt |
|---|---|---|---|
| Anzahl | 6 | 5 | 11 |
| Lebensalter in Jahren | 51, 58, 61, 62, 66, 80 | 62, 63, 65, 67, 68 | 63,91±7,13 SD |

SD: Standardabweichung

### 3.1.2 Gesamtzahl der Zahnpaare und Anzahl der Zahnpaare pro Patient

**Tabelle 6:** Gesamtzahl der behandelten Zahnpaare sowie Anzahl der behandelten Zahnpaare pro Patient und Geschlecht der im Rahmen der Studie 2010 am Universitätsklinikum Ulm behandelten Patienten mit persistierender Entzündung bei mittelschwerer chronischer Parodontitis.

| | männlich | weiblich | Summe |
|---|---|---|---|
| Einzelwerte | 5, 3, 5, 4, 4, 7 | 5, 5, 6, 2, 3 | 49 |

**Tabelle 7:** Anzahl Zahnpaare pro Patient im Gesamtkollektiv der im Rahmen der Studie 2010 am Universitätsklinikum Ulm behandelten Patienten mit persistierender Entzündung bei mittelschwerer chronischer Parodontitis.

| | |
|---|---|
| Median | 5.0 |
| Quartilabstand | 5 |
| Minimum | 2.0 |
| Maximum | 7.0 |

### 3.1.3 Einfluss der Größen Alter, Geschlecht und Wurzligkeit

Nach Adjustierung der klinischen und mikrobiellen Messergebnisse bzgl. Alter, Geschlecht und Wurzligkeit der Zähne (einwurzlig/mehrwurzlig) liegt kein signifikanter Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe vor (p>0,05).

## 3.2 Klinische Messergebnisse

### 3.2.1 Sondierungstiefen

Der Medianwert der ST lag sowohl in der Test- als auch der Kontrollgruppe zu Baseline bei 5,0 mm IQR 1. Die Mittelwerte lagen in der Testgruppe bei 5,51 mm ±0,64SD und in der Kontrollgruppe bei 5,38 mm ±0,63SD, wobei der Unterschied nicht signifikant war (p=0,24). Im Vergleich zur Baselineuntersuchung konnte in beiden Gruppen die ST nach 1-, 3- und 6 Monaten signifikant reduziert werden. In der Kontrollgruppe zeigte sich eine mittlere Reduktion der ST im Vergleich zur Baseline von 1,0 mm nach einem Monat, 1,4 mm nach drei Monaten und 1,5 mm nach sechs Monaten. In der Testgruppe betrug die mittlere Reduktion der ST im Vergleich zur Baseline nach einem Monat 1,2 mm, nach drei Monaten 1,2 mm und nach sechs Monaten 1,3 mm.

Der Vergleich von Test- und Kontrollgruppe ergab zum Zeitpunkt M3 eine statistisch signifikant größere Reduktion der ST in der Kontrollgruppe (M3:p=0,02). Zu den weiteren Zeitpunkten M1 und M6 ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Test- zu Kontrollgruppe (M1:p=1,00, M6:p=0,07). Den zeitlichen Verlauf der medianen ST zeigt Abbildung 16. Die Mittelwerte, SD und p-Werte der ST zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten zeigt Tabelle 8.

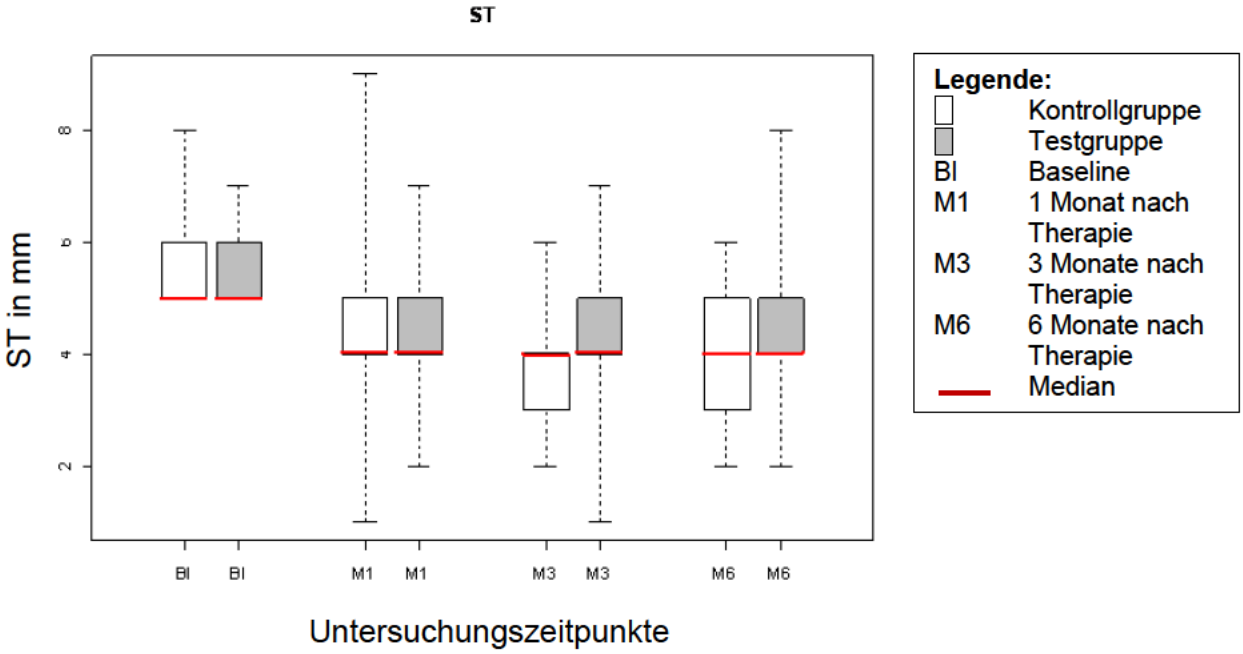


**Abbildung 16:** Darstellung der medianen Sondierungstiefen (ST) in den Therapiegruppen zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten. Box Plots zeigen Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum.

**Tabelle 8:** Mittelwerte, Standardabweichungen (SD) und p-Werte der Sondierungstiefen (ST) der Zahnpaare in Test- und Kontrollgruppe zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten.

| | BI | M1 | p-Wert: Änderung zur Baseline | M3 | p-Wert: Änderung zur Baseline | M6 | p-Wert: Änderung zur Baseline |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Test-gruppe | 5,5mm ± 0,6SD | 4,3mm ± 1,2SD | <0,01 | 4,3mm ± 1,3SD | <0,01 | 4,2mm ± 1,4SD | <0,01 |
| Kontroll-gruppe | 5,4mm ± 0,6SD | 4,3mm ± 1,4SD | <0,01 | 3,9mm ± 1,0SD | <0,01 | 3,9mm ± 1,1SD | <0,01 |
| p-Wert: Test/ Kontrolle | 0,24 | 1,00 | | 0,02 | | 0,07 | |

**Legende:**

BI: Baseline

M1: einen Monat post Therapie

M3: drei Monate post Therapie

M6: sechs Monate post Therapie

### 3.2.2 Klinischer Attachmentlevel

ΔCAL beschreibt die Veränderung des klinischen Attachmentlevels CAL nach 1-, 3-, und 6 Monaten in Relation zur Baseline.

In der Kontrollgruppe zeigte sich nach einem Monat ein mittlerer Attachmentgewinn von 0,8 mm ±1,2SD, nach drei Monaten von 0,6 mm ±1,1SD und nach sechs Monaten von 0,6 mm ±1,3SD. In dieser Gruppe zeigte sich zu den Zeitpunkten M1, M3 und M6 ein signifikanter Attachmentgewinn im Vergleich zur Baseline (M3: $p<0,01$, M6: $p=0,02$).

In der Testgruppe lag nach einem Monat ein im Vergleich zur Baseline mittlerer Attachmentverlust von 0,06 mm ±1,4SD vor. Nach drei Monaten ergab sich ein mittlerer Attachmentgewinn von 0.14 mm ±1,4SD und nach sechs Monaten von 0,1 mm ±1,4SD. Die Veränderungen des CAL im Vergleich zur Baseline waren in der Testgruppe zu keinem Untersuchungszeitpunkt signifikant.

Im Vergleich zwischen Test- und Kontrollgruppe konnte lediglich nach einem Monat ein signifikant größerer Attachmentgewinn in der Kontrollgruppe festgestellt werden ($p=0,03$). Nach drei und sechs Monaten konnte dieser signifikante Unterschied nicht mehr nachgewiesen werden ($p\geq0,10$).

Abbildung 17 gibt eine Übersicht über die Mediane der ermittelten ΔCAL. Tabelle 9 zeigt die Mittelwerte, SD und p-Werte zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten.

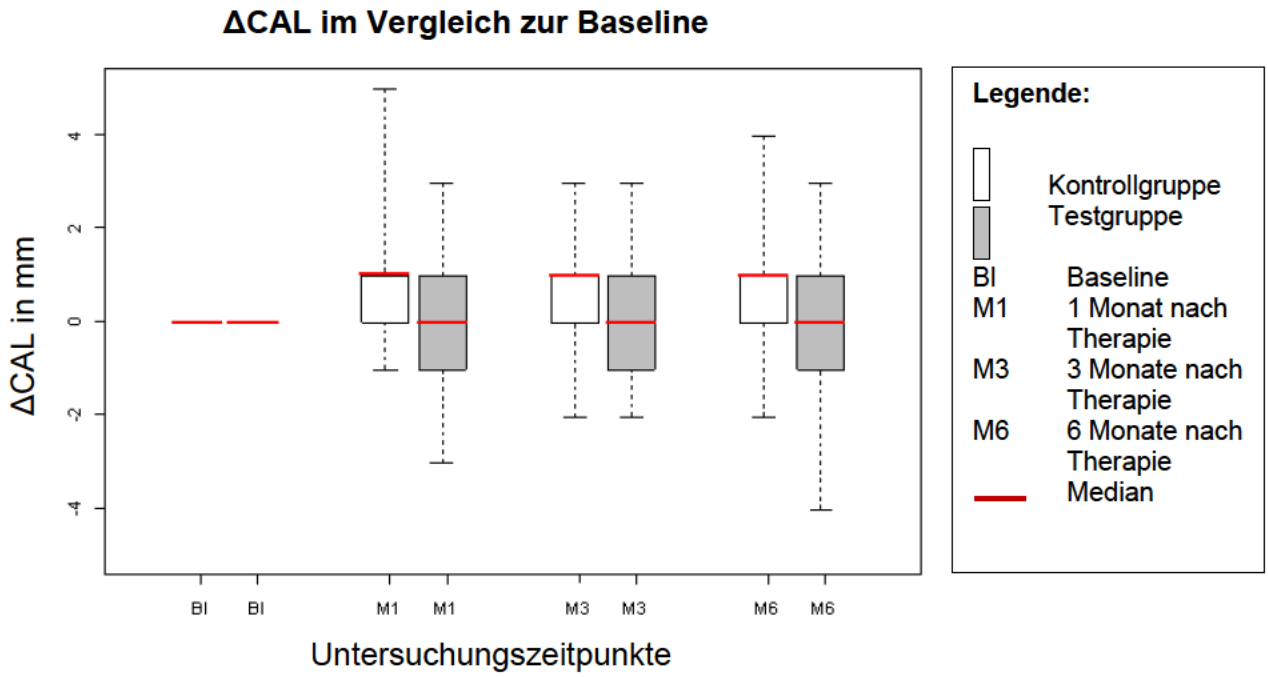


**Abbildung 17:** Veränderung des klinischen Attachmentlevels (ΔCAL) der Zahnpaare im Vergleich zur Baseline in den Therapiegruppen zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten. Die Box Plots zeigen Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum.

**Tabelle 9:** Mittelwerte, Standardabweichungen (SD) und p-Werte der Veränderung des klinischen Attachmentlevels (ΔCAL) der Zahnpaare in Test- und Kontrollgruppe zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten.

| | BI | M1 | p-Wert: Änderung zur Baseline | M3 | p-Wert: Änderung zur Baseline | M6 | p-Wert: Änderung zur Baseline |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Test-gruppe | 0mm | -0,1mm ± 1,4SD | 0,89 | +0,1mm ± 1,4SD | 0,52 | +0,1mm ± 1,4SD | 0,81 |
| Kontroll-gruppe | 0mm | +0,8mm ± 1,2SD | <0,01 | +0,6mm ± 1,1SD | <0,01 | +0,6mm ± 1,3SD | 0,02 |
| p-Wert: Test/ Kontrolle | 0,08 | 0,03 | | 0,14 | | 0,10 | |

**Legende:**

BI: Baseline

M1: einen Monat post Therapie

M3: drei Monate post Therapie

M6: sechs Monate post Therapie

### 3.2.3 Blutung bei Sondierung

Zur Baseline-Untersuchung betrug Bluten bei Sondierung (BOP) sowohl in der Test- als auch der Kontrollgruppe 100 %, da in den Einschlusskriterien die parodontal persistierende Entzündung ein Einschlusskriterium darstellte.
Die Reduktion von BOP im Vergleich zur Baseline war in der Kontrollgruppe zu den Untersuchungszeitpunkten M1 (p=0,01), M3 (p≤0,01) und auch M6 (p≤0,01) signifikant.
Allerdings zeigte sich dies auch in der Testgruppe (M1: p≤0,01; M3: p≤0,01; M6: p≤0,01).
Die prozentuale Reduktion von BOP nach drei Monaten im Vergleich zur BL betrug in der Testgruppe 89,8 % und in der Kontrollgruppe lediglich 81,6 %.
Die prozentuale Reduktion von BOP nach sechs Monaten betrug in der Test- und Kontrollgruppe 93,9 %, ein signifikanter Unterschied lag nicht vor (p=0,10).
In Abbildung 18 ist die Häufigkeitsverteilung von BOP in Test- und Kontrollgruppe dargestellt.

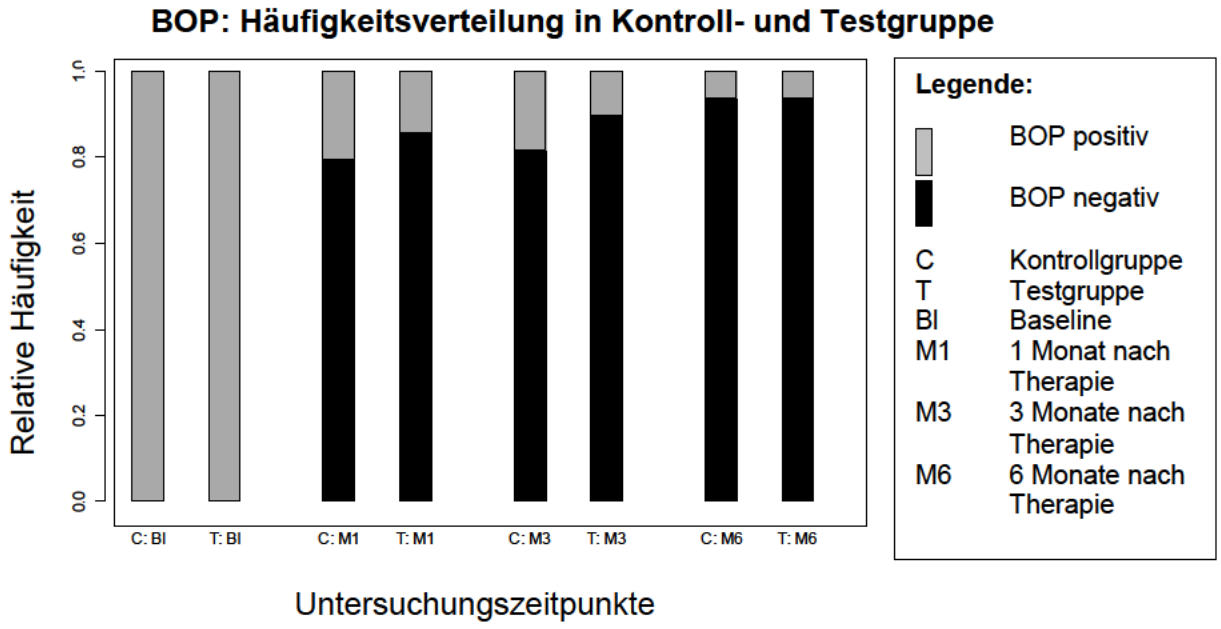


**Abbildung 18:** Häufigkeitsverteilung der Blutung bei Sondierung (BOP) in den Therapiegruppen zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten.

### 3.2.4 Gingiva-Index

In Abbildung 19 ist die Häufigkeitsverteilung des GI in der Test- und Kontrollgruppe zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten dargestellt. Der Vergleich von beiden Gruppen ergab zu keinem Untersuchungszeitpunkt einen signifikanten Unterschied (p=0,36).

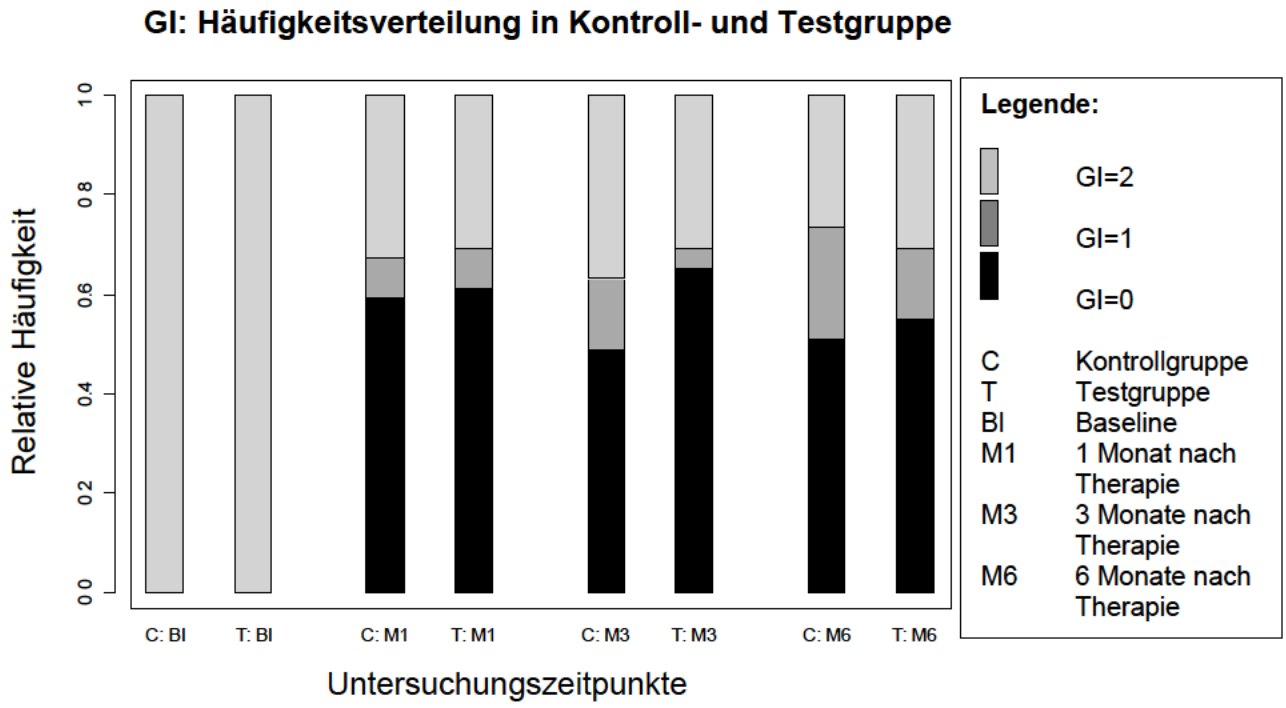


**Abbildung 19:** Häufigkeitsverteilung der Grade des Gingiva-Index (GI) der Zahnpaare in den Therapiegruppen zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten.

### 3.2.5 Plaque-Index

In Abbildung 20 ist die Häufigkeitsverteilung des PI in Test- und Kontrollgruppe zu den Untersuchungszeitpunkten dargestellt. Der Vergleich beider Gruppen ergab zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Unterschied (p=0,10).

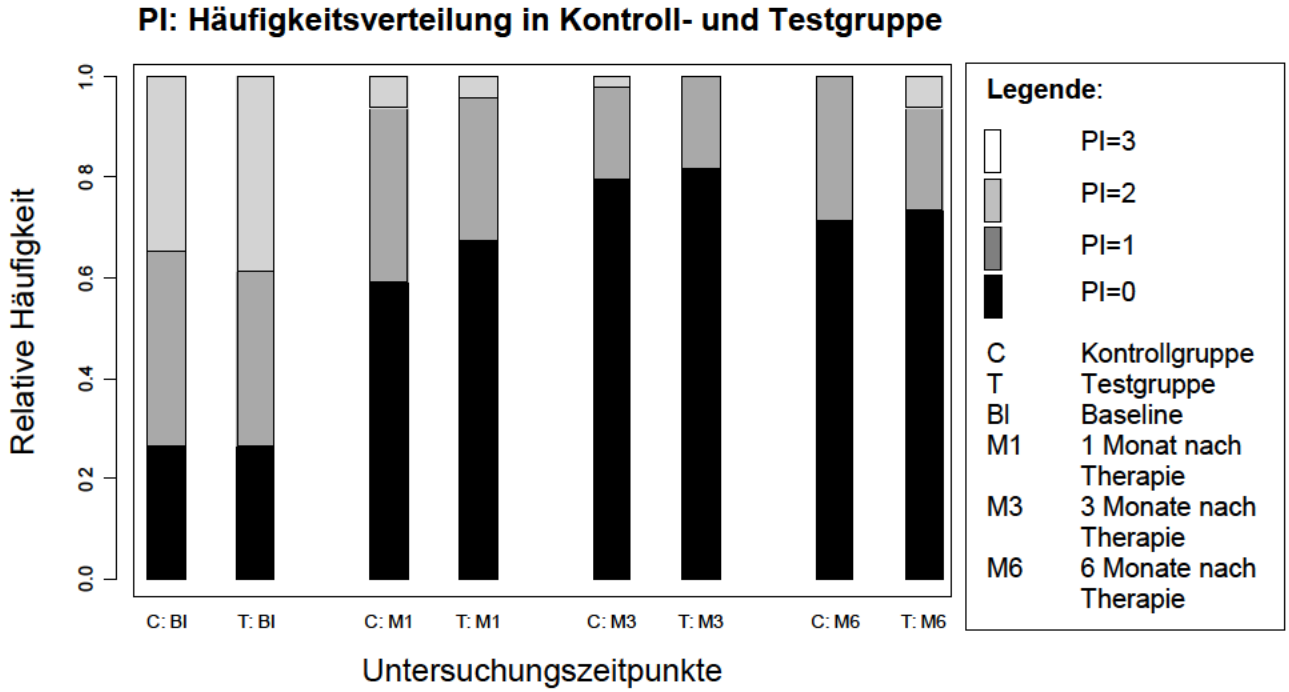


**Abbildung 20:** Häufigkeitsverteilung der Grade des Plaque-Index (PI) der Zahnpaare in den Therapiegruppen zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten.

## 3.3 Mikrobiologische Untersuchungen

### 3.3.1 Anzahl der Zahnpaare mit positivem Keimnachweis

**Tabelle 10:** Prozentualer Anteil und Anzahl der Zahnpaare mit positivem Keimnachweis auf die untersuchten parodontalpathogenen Keime (bei insgesamt 49 Zahnpaaren)

| parodontalpathogener Keim | Anzahl Zahnpaare mit positiven Keimnachweis | %-Anteil positiver Zahnpaare |
|---|---|---|
| A.a. | 31 | 63,2 % |
| P.g. | 24 | 49 % |
| T.f. | 29 | 59,2 % |
| P.i. | 28 | 57,1 % |
| T.d. | 29 | 59,2 % |

### 3.3.2 Effekt der Therapie auf die Keimzahl von *A.a.*

Bei der Baselineuntersuchung lag der Median des Zehnerlogarithmus von *A.a.* in der Kontrollgruppe bei 2,5 IQR 3,1. Die größte Keimreduktion in der Kontrollgruppe ergab sich zum Zeitpunkt M6. Hier war eine Reduktion auf 0.00 IQR 3,0 Keime messbar, welche im Vergleich zur Baseline statistisch signifikant war (p=0,05).

In der Testgruppe betrug der Median des Zehnerlogarithmus zur Baseline 0,00 IQR 2,6. In der Testgruppe lag zu keinem Untersuchungszeitpunkt eine signifikante Reduktion zur Baseline vor (p>0,46).

In der Kontrollgruppe zeigte sich bereits zur Baseline eine signifikant höhere Anzahl von *A.a.* in den untersuchten Taschen (p=0,05) im Vergleich zur Testgruppe. Dieser signifikante Unterschied bestand auch noch nach einer Woche (p=0,03). Zu den Beobachtungszeiträumen M1 (p=0,06), M3 (p=0,18) und M6 (p=0,33) war dieser dagegen nicht mehr statistisch signifikant.

In Abbildung 21 ist der Verlauf der logarithmierten Keimzahlen von *A.a.* dargestellt.

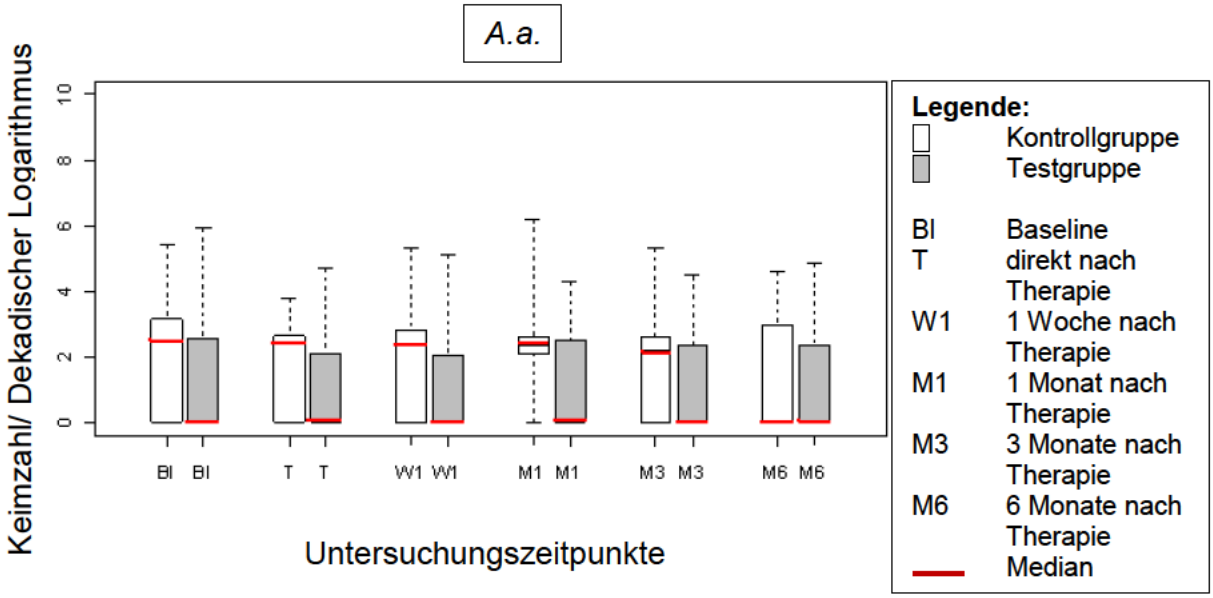


**Abbildung 21:** Keimzahlen von *A.a.* der Zahnpaare in den Therapiegruppen zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten. Die Box Plots zeigen Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum.

### 3.3.3 Effekt der Therapie auf die Keimzahl von *P.g.*

Bei *P.g.* konnten zur Baseline keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Keimzahlen zwischen Test- und Kontrollgruppe festgestellt werden (p=0,22). In der Testgruppe ergab der Median des Zehnerlogarithmus zur Baseline eine Keimzahl von 3,6 IQR 3,2, in der Kontrollgruppe von 5,1 IQR 3,9. In der Kontrollgruppe lag zu M3 noch kein signifikanter Unterschied zur Baseline vor (Keimzahl 3,5 IQR 3,2; p=0,12), allerdings zeigte sich ein signifikanter Unterschied zu M6 (Keimzahl 2,7 IQR 4,2; p≤0,01). In der Testgruppe zeigte sich eine signifikante Keimreduktion von Baseline zu M3 (p=<0,01), wobei die Keimzahl auf 0,0 IQR 3,3 sank. Nach sechs Monaten konnte dieser signifikante Unterschied allerdings nicht mehr festgestellt werden (p=0,96).

Die stärkste Keimreduktion ergab sich sowohl in der Test- (Keimzahl 0,0 IQR 0,7) als auch in der Kontrollgruppe (Keimzahl 0,0 IQR 4,4) von Baseline zu M1. Dabei

war in beiden Fällen ein signifikanter Unterschied statistisch nachweisbar (p≤0,01).

Der Gruppenvergleich zeigte zu M3 einen signifikanten Unterschied der logarithmierten Mediane von *P.g.* zwischen Test- und Kontrollgruppe (p=0,05) mit einer deutlicheren Keimreduktion in der Testgruppe. Zu den anderen Beobachtungszeitpunkten war dies nicht der Fall (p≥0,07).

Die Messergebnisse über den Beobachtungszeitraum sind in Abbildung 22 dargestellt.

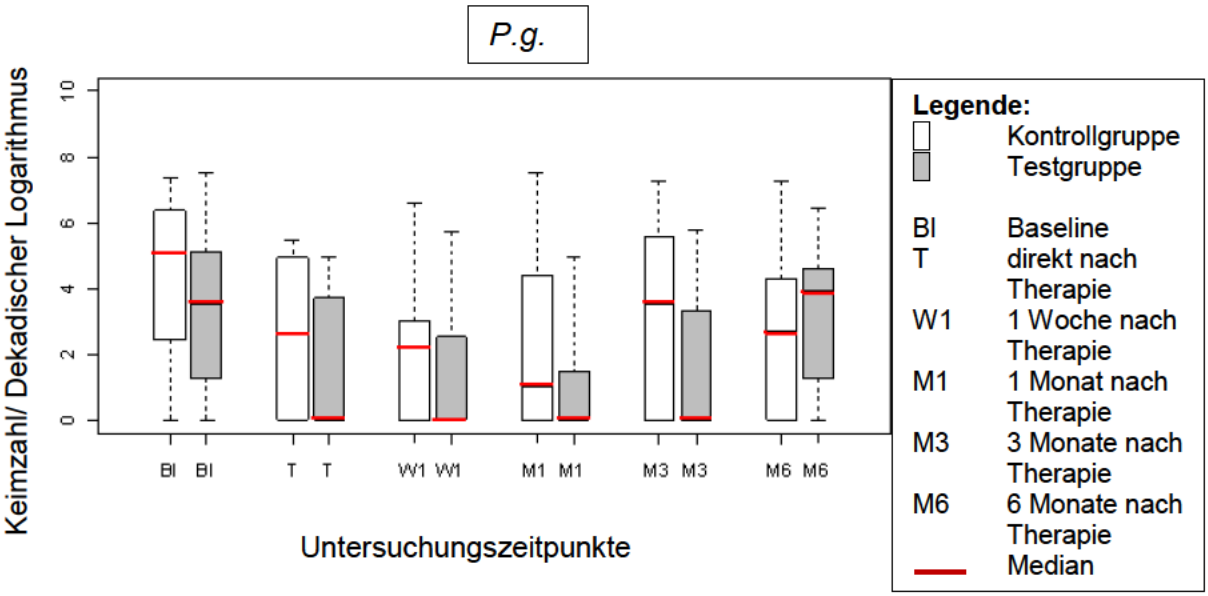


**Abbildung 22:** Keimzahlen von *P.g.* der Zahnpaare in den Therapiegruppen zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten. Die Box Plots zeigen Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum.

### 3.3.4 Effekt der Therapie auf die Keimzahl von *T.f.*

Zur Baseline lag kein signifikanter Unterschied der logarithmierten Mediane von *T.f.* zwischen Test- und Kontrollgruppe vor. In der Testgruppe ergab der Median des Zehnerlogarithmus zur Baseline eine Keimzahl von 3,3 IQR 4,8 und in der Kontrollgruppe von 3,9 IQR 3,1.

In der Kontrollgruppe zeigte sich zu W1 und M1 eine signifikante Keimreduktion bezogen zur Baseline (W1: p≤0,01; M1: p=0,01).

Auch in der Testgruppe zeigte sich eine signifikante Keimreduktion bei W1 und M1 zur Baseline (p≤0,01). Zu den Untersuchungszeitpunkten M3 und M6 konnte allerdings weder, in der Test- noch in der Kontrollgruppe, eine signifikante Keimreduktion festgestellt werden (p≥0,06).

Der Gruppenvergleich ergab zu M1 und M3 einen signifikanten Unterschied der logarithmierten Mediane von *T.f.* zwischen Test- und Kontrollgruppe mit einer stärkeren Keimreduktion in der Testgruppe (M1: p=0,01; M3: p=0,03).

Abbildung 23 gibt den Verlauf der Messergebnisse wieder.

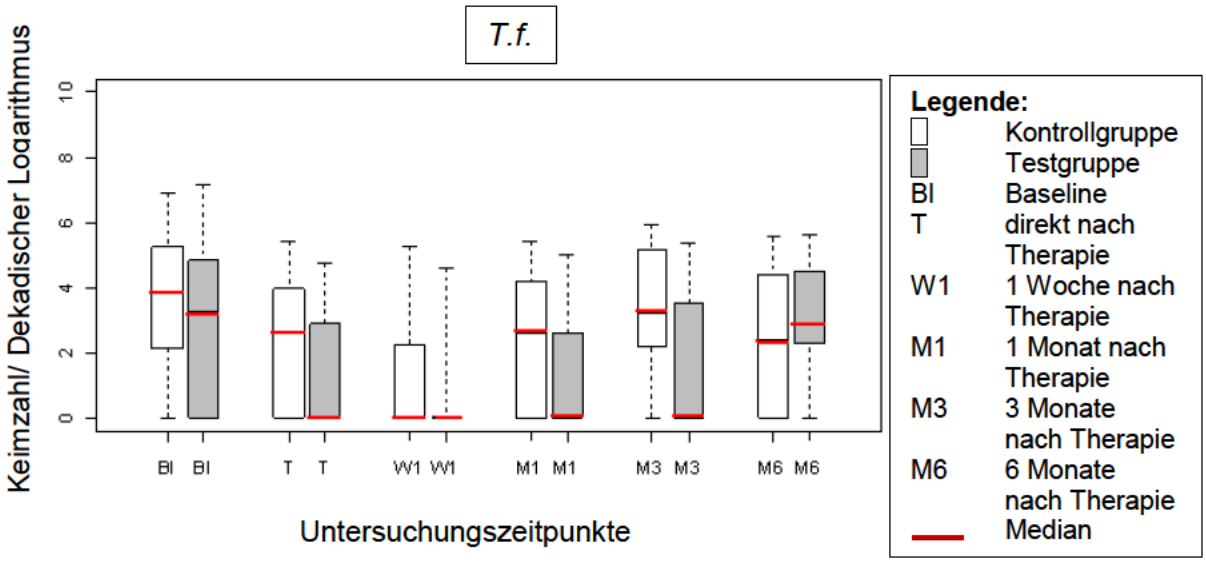


**Abbildung 23:** Keimzahlen von *T.f.* der Zahnpaare in den Therapiegruppen zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten. Die Box Plots zeigen Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum.

### 3.3.5 Effekt der Therapie auf die Keimzahl von *P.i.*

Bei *P.i.* liegt bereits zur Baseline ein signifikanter Unterschied der logarithmierten Mediane zwischen Test- und Kontrollgruppe vor (p=0,03).

Zur Baseline ergab der Median des Zehnerlogarithmus in der Kontrollgruppe eine Keimzahl von 4,1 IQR 2,6 und in der Testgruppe von 2,3 IQR 3,5.

In der Kontrollgruppe lag zu den Untersuchungszeitpunkten W1, M3 und M6 eine signifikante Keimreduktion im Vergleich zur Baseline vor (p≤0,01). Lediglich zu M1 konnte keine signifikante Reduktion festgestellt werden (p=0,09). In der Testgruppe zeigte sich, bezogen auf die Baseline nach W1(p=0,01) und M3 (p=0,02), eine signifikante Reduktion der Keimzahl. Zu den Zeitpunkten M1 und M6 konnte in der Testgruppe, bezogen zur Baseline, keine signifikante Keimreduktion nachgewiesen werden (p≥0,26).

Der Gruppenvergleich ergab zu W1 (p=0,03), M1 (p=0,03) und M3 (p=0,05) einen statistisch signifikanten Unterschied der logarithmierten Mediane von *P.i.* zwischen Test- und Kontrollgruppe, mit einer stärkeren Keimreduktion in der Testgruppe. Nach sechs Monaten konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (p=0,94).

Die Messergebnisse über den Beobachtungszeitraum sind in Abbildung 24 dargestellt.

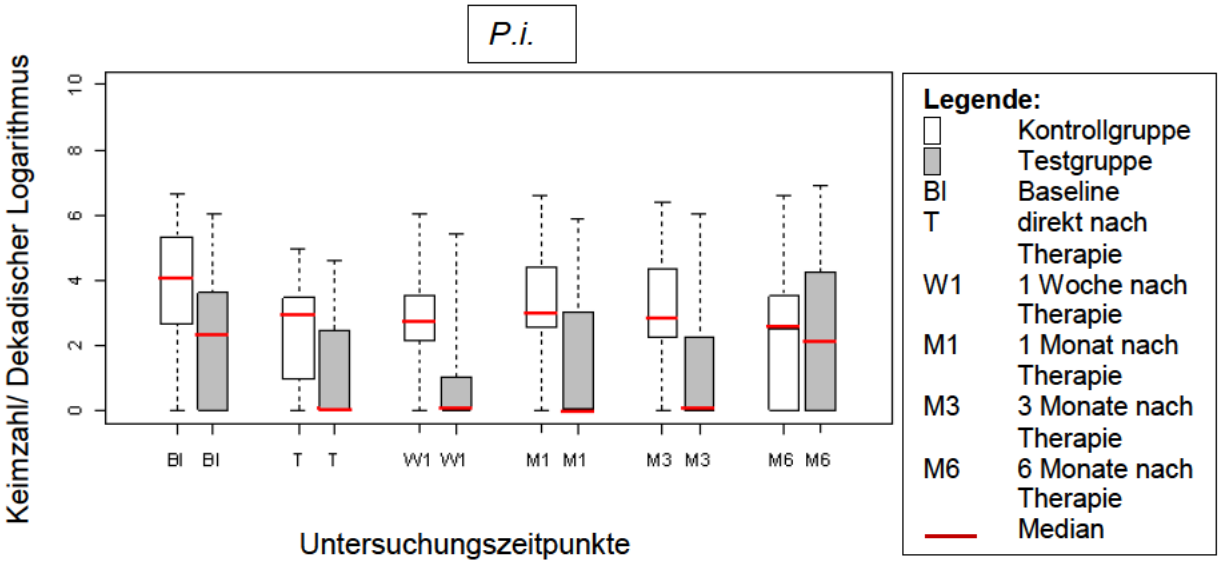


**Abbildung 24:** Keimzahlen von *P.i.* der Zahnpaare in den Therapiegruppen zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten. Die Box Plots zeigen Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum.

### 3.3.6 Effekt der Therapie auf die Keimzahl von *T.d.*

Bei *T.d.* liegt zur Baseline kein signifikanter Unterschied der logarithmierten Mediane zwischen Test- und Kontrollgruppe vor (p=0,81). Zur Baseline ergab der Median des Zehnerlogarithmus eine Keimzahl in der Testgruppe von 5,3 IQR 2,4 und in der Kontrollgruppe von 4,9 IQR 2,2.

In der Testgruppe liegt zu allen Untersuchungszeitpunkten eine signifikante Keimreduktion zur Baseline vor (p<0,01). Der logarithmierte Median der Keimzahl liegt in der Testgruppe zu M3 bei 3,0 IQR 3,8 und zu M6 bei 3,9 IQR 5,4.

Die größte Keimreduktion in der Testgruppe bezogen zur Baseline ergibt sich zu W1 (Keimzahl 0,0 IQR 2,7).

In der Kontrollgruppe zeigt sich zu W1 (Keimzahl 3,1 IQR 3,2), M3 (Keimzahl 3,7 IQR 3,2) und zu M6 (Keimzahl 3,8 IQR 3,3) eine signifikante Keimreduktion (p≤0,03) im Vergleich zur Baseline. Zu M1 konnte keine signifikante Reduktion festgestellt werden (p=0,06).

Der Gruppenvergleich ergab zu W1 (p=0,05), M1 (p=0,02) und M3 (p=0,05) einen statistisch signifikanten Unterschied der logarithmierten Mediane von *T.d.* zwischen Test- und Kontrollgruppe, mit einer stärkeren Keimreduktion in der Testgruppe. Nach sechs Monaten konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (p=0,53).

In Abbildung 25 ist der Verlauf der logarithmierten Keimzahlen von *T.d.* dargestellt.

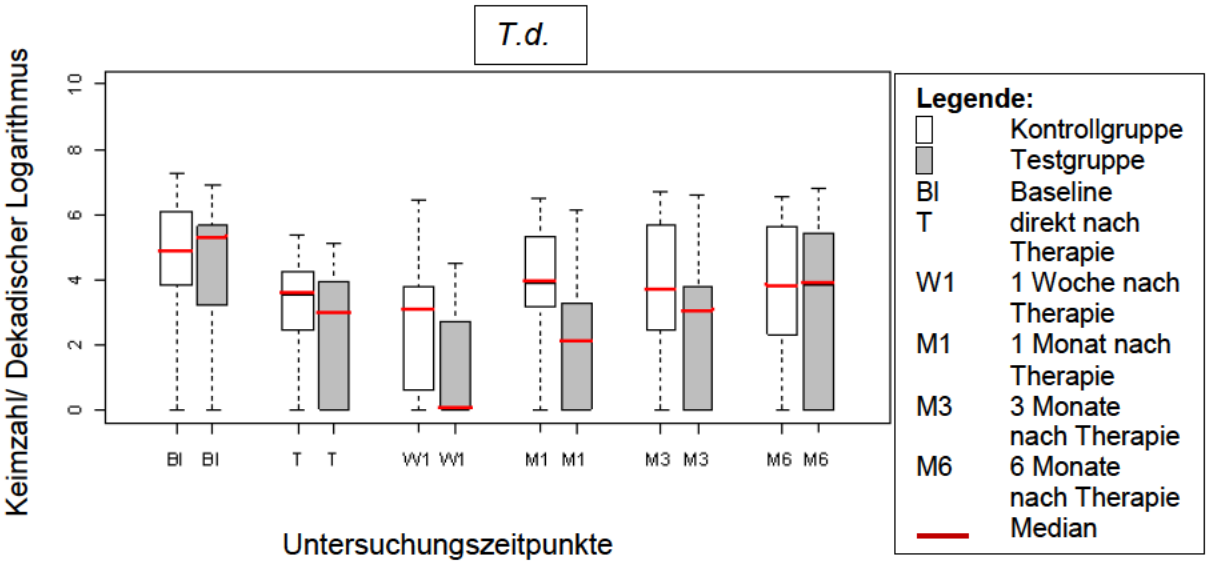


**Abbildung 25:** Keimzahlen von *T.d.* der Zahnpaare in den Therapiegruppen zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten. Die Box Plots zeigen Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum.

### 3.3.7 Effekt der Therapie auf die gesamte Keimzahl

Bereits zur Baseline liegt ein signifikanter Unterschied der logarithmierten Mediane zwischen Test- und Kontrollgruppe vor (p=0,03). In der Testgruppe ergab der Median des Zehnerlogarithmus zur Baseline eine Keimanzahl von 4,5 IQR 3,1 und in der Kontrollgruppe von 4,6 IQR 3,2.

In der Kontrollgruppe konnte zu den Zeitpunkten W1 und M1 eine signifikante Reduktion der Keime bezogen zur Baseline festgestellt werden (p≤0,04).

Zu den Zeitpunkten M3 (p=0,12) und M6 (p=0,06) konnte jedoch keine signifikante Keimreduktion, bezogen zur Baseline, mehr nachgewiesen werden.

In der Testgruppe zeigt sich eine signifikante Keimreduktion (p≤0,02) von Baseline zu W1 (Keimanzahl 1,0 IQR 3,4), M1 (Keimanzahl 2,9 IQR 3,8) und M3 (Keimanzahl 3,3 IQR 4,2).

Nach 6 Monaten konnte keine signifikante Keimreduktion, im Vergleich zu Baseline, mehr festgestellt werden (p=0,90).

Der Gruppenvergleich ergab zu M3 (p=0,40) und M6 (p=0,12) keinen signifikanten Unterschied der logarithmierten Keimzahlen zwischen Test- und Kontrollgruppe. Zu W1 und M1 liegt ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe zugunsten der Testgruppe vor (W1: p=0,01; M1: p<0,01).

Die Messergebnisse über den Beobachtungszeitraum sind in Abbildung 26 dargestellt.

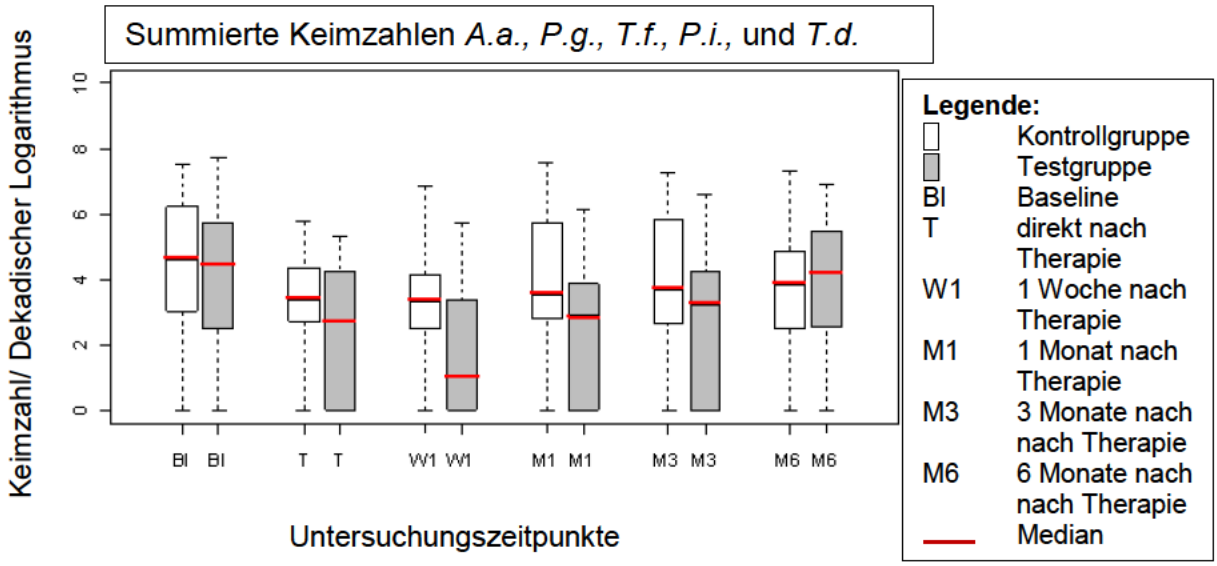


**Abbildung 26:** Mediane der summierten Keimzahlen von *A.a., P.g., T.f., P.i.* und *T.d.* der Zahnpaare in den Therapiegruppen zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten. Die Box Plots zeigen Median, 1. und 3. Quartil, Minimum und Maximum.

# 4. Diskussion

Ziel der Studie war es zu ermitteln, ob die zusätzliche Anwendung des lokalen Antibiotikums Arestin im Rahmen der konventionellen/geschlossenen Parodontaltherapie zu einer zusätzlichen Verbesserung der klinischen und mikrobiologischen Parameter führt.

Zur Sicherstellung eines möglichst vergleichbaren Patientenkollektivs wurden vor Durchführung der Studie detaillierte Ein- und Ausschlusskriterien definiert. Dadurch sollte der Einfluss patientenbezogener Faktoren auf das Therapieergebnis minimiert werden. So wurden z.B. Patienten unter Antikoagulantientherapie bzw. mit Blutgerinnungsstörungen von vornherein von der Teilnahme ausgeschlossen, da bei ihnen mit einer Verfälschung der Parameter BOP und GI zu rechnen ist.

Bei schwangeren Patientinnen führen Schwankungen der Sexualhormone (Östrogen, Progesteron) zu einer Wachstumssteigerung parodontalpathogener Keime und damit zu einer Verfälschung der mikrobiologischen Ergebnisse.

Nikotingenuss wurde ebenfalls als Ausschlusskriterium definiert, da in zahlreichen retro- und prospektiven Studien bei Zigarettenrauchern eine erhöhte Prävalenz parodontaler Erkrankungen nachgewiesen wurde. Ebenso konnte gezeigt werden, dass bei Rauchern sowohl die konventionelle (Scaling und Wurzelglätten) als auch die chirurgische Parodontaltherapie zu deutlich schlechteren Ergebnissen führen als bei Nichtrauchern (Bergström 2006). Bei initial sehr großen ST wird der Unterschied am deutlichsten sichtbar. So konnte z.B. bei Rauchern die ST nach der Therapie nur um 1,75 mm, bei Nichtrauchern um 2,23 mm reduziert werden (Preshaw 2005).

Auch Patienten die in den letzten sechs Monaten vor der Baseline-Untersuchung eine lokale oder systemische Antibiotikatherapie erhalten hatten wurden aufgrund verfälschter mikrobiologischer Ausgangsparameter nicht zu dieser Studie zugelassen. Patienten mit schwerwiegenden systemischen Erkrankungen wie z.B. Leberfunktionsstörungen, Nierenfunktionsstörungen oder Magen-Darm-Erkrankungen wurden ebenfalls von der Teilnahme ausgeschlossen.

Ein wichtiges Einschlusskriterium bei dieser Studie war eine gute häusliche Mundhygiene, welche durch Erhebung der Mundhygieneindizes API und SBI

bestimmt und dokumentiert wurde. Dies stellte sicher, dass der Einfluss der Mundhygiene auf die klinischen aber auch die mikrobiologischen Parameter minimiert wurde.

Die Durchführung der Studie erfolgte im Split-mouth-Design. Dies bedeutet, es wird eine Zahnfleischtasche eines Quadranten mit einer in Tiefe und Lokalisation vergleichbaren Zahnfleischtasche im kontralateralen Quadranten des gleichen Patienten verglichen. Dadurch wird eine verbundene Datensituation erzeugt, welche eine Strukturgleichheit der zu vergleichenden Zähne bewirkt. Die Zuteilung, welches Verfahren (Test- oder Kontrolle) auf der jeweiligen Seite durchgeführt wird, erfolgte randomisiert nach dem Zufallsprinzip. Beim Split-mouth-Design handelt es sich um ein für diese, bzw. vergleichbare Fragestellung international anerkanntes und vielfach publiziertes Verfahren, das als Einziges die möglichen individuellen Unterschiede zwischen verschiedenen Patienten (wie z.B. systemische Faktoren, mikrobiologische Faktoren, immunologische Antwort, Habits, Ernährung, Mundhygiene etc.) als auch die Unterschiede zwischen verschiedenen Zahnlokalisationen innerhalb der Mundhöhle eines Patienten (wie z.B. Funktion/Wirkung Speicheldrüsen, Putzgewohnheiten etc.) berücksichtigt. Auf diese Weise konnten die Einflüsse der erwähnten individuellen Faktoren ausgeschlossen und validierte Aussagen bzgl. einer möglichen positiven Auswirkung der adjuvanten lokalen Antibiotikatherapie getroffen werden.

Da das Behandlungsergebnis auch stark von der initialen ST abhängig ist (Claffey 2004), wurde auf eine maximale Differenz von 1 mm bei den zu vergleichenden Zähnen geachtet.

Die Erhebung der klinischen und mikrobiologischen Parameter und die Durchführung der Parodontaltherapie wurden von zwei verschiedenen Personen, ohne Kenntnis der Ergebnisse des Anderen bzw. der Art der erfolgten Therapie, durchgeführt. Es handelt sich hierbei um eine einfachblind durchgeführte Studie. Dieses Verfahren stellt sicher, dass eine unvoreingenommene und objektive Bewertung der Studienergebnisse und der Wirksamkeit des Präparates gegeben ist. Zudem wurden alle Kontrolluntersuchungen nach der Therapie von ein und derselben Person erhoben, um auch behandlerspezifische Faktoren auszuschließen. Aus diesen Gründen wurde auch die eigentliche Therapie von nur einer Person durchgeführt.

## 4.1 Diskussion der Methode

### 4.1.1 Messung der klinischen Parameter mittels Florida Probe

In dieser Studie wurden die klinischen Parameter ST und CAL mittels der elektronischen Messonde „Florida Probe“ erhoben und automatisch an den Computer übertragen, sodass Übertragungsfehler ausgeschlossen sind.
Die ST wurde mit der Standardsonde und der CAL mit der Hülsensonde gemessen. Hierbei wurde darauf geachtet, dass durchgängig mit derselben Standardsonde und Hülsensonde gearbeitet wurde, da das Messergebniss stark von der Beschaffenheit der Sondenspitze und dem Messdruck abhängig ist (Vartoukian 2004). Da immer mit denselben druckkalibrierten Sonden gemessen wurde, kann von einer Genauigkeit von 0,2 mm ausgegangen werden (Mombelli 2005). Auch in Bezug auf BOP liefert eine Druckkalibrierung aussagekräftigere Ergebnisse (Lang 1991).
Für die Messung des CAL wurde ein fixer koronaler Bezugspunkt verwendet, der mittels eines Plateaus auf einer individuell gefertigten Tiefziehschiene festgelegt wurde. Auf diese Weise wurde auch die Sondierrichtung weitestgehend festgelegt, was zu einer zusätzlichen Messgenauigkeit führt.
Zur weiteren Steigerung der Messgenauigkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurde die Kontroll-Doppelmessung aktiviert. Diese Einstellung sorgt dafür, dass auf jede Messung ein zweiter Durchgang folgt und die erste Messung mit der zweiten verglichen wird. Die maximal akzeptable Differenz dieser beiden Messungen wurde auf kleiner 0,6 mm eingestellt.

### 4.1.2 Entnahme der Plaqueproben

Alle Plaqueproben wurden mittels steriler Papierspitzen der ISO-Größe 40 entnommen. Um sicherzustellen, dass die Papierspitzen nicht bereits vor der Einbringung in die Zahnfleischtasche mit Plaquebakterien kontaminiert werden, wurden an den entsprechenden Stellen sämtliche supragingivalen Beläge sowie Speichel entfernt. Durch die Verwendung ISO-kalibrierter Papierspitzen konnte zudem gewährleistet werden, dass für die mikrobiologische Analyse immer gleiche Mengen an subgingivaler Plaque entnommen wurden.
Die Papierspitzen wurden anschließend in bereits beschriftete Eppendorf-Gefäße gegeben und bei -20° C bis zur Analyse aufbewahrt.
Alle Bakterienproben wurden gemeinsam mittels Realtime PCR ausgewertet. Dabei wurde darauf geachtet, dass alle Proben eines Patienten gemeinsam analysiert wurden. Auf diese Weise sollten mögliche Einflüsse von Reagenzien etc. minimiert werden.

### 4.1.3 Keimnachweis mittels Realtime PCR

Seit der Entdeckung der PCR Anfang der 90iger Jahre haben sich die auf dieser Reaktion basierenden Verfahren, u.a. zu wichtigen Eckpfeilern für die spezifische Detektion und/oder Identifizierung von Mikroorganismen (MO), im Rahmen der medizinischen Diagnostik entwickelt (Tang et al., 1997).
Im Vergleich zu den konservativeren Nachweismethoden, wie z.B. der Kultivierung von MO weißt eine PCR-basierte Detektion mehrere Vorteile auf. So ist eine PCR weit weniger diskriminierend als die Anzuchtversuche von Mikroorganismen, da nach wie vor viele dieser Keime nicht oder nur sehr aufwändig zu kultivieren sind. Als Beispiel seien hier strikte Anaerobier genannt, die allein schon aufgrund der aufwändigen und kritischen Probenentnahme nur schwer kultiviert werden können. Des Weiteren haben sehr viele Organismen unbekannte und/oder sehr hohe Ansprüche an das Medium (C-Quellen, Vitamine, Spurenelemente, usw.) und die Umweltbedingungen (Temperatur, Atmosphärenzusammensetzung, usw.). Die sich daraus ergebenden Probleme bei der Kultivierung können mitunter zu einem fehlerhaften Keimnachweis führen, was

schwerwiegende Folgen für den Patienten haben kann (Nikkari et al., 2002). Diesbezüglich ebenfalls zu beachten sind die ggf. sehr langen Generationszeiten einiger der gesuchten MO-Spezies, so dass die Ergebnisse eines klassischen Kultivierungsversuchs mitunter erst nach Tagen oder gar Wochen vorliegen können. Regelmäßig sind darüber hinaus noch weiterführende Schritte für die sichere Identifikation der gesuchten Bakterien notwendig. Dies verhindert eine zeitnahe mikrobiologische Diagnostik; ein Nachteil der gerade bei schnell fortschreitenden Infektionen sehr schwer wiegt (Cook et al., 2003).

Der Erregernachweis mittels PCR erlaubt dagegen eine relativ unkomplizierte Probennahme und deren Aufbereitung. Hinzu kommt noch die sehr hohe Spezifität einer PCR, die wesentlich schnellere Verfügbarkeit der benötigten Ergebnisse sowie eine bessere Reproduzierbarkeit.

Die meist sehr hohe Sensitivität einer PCR bedingt eine sehr niedrige Detektionsgrenze, weshalb auch der spezifische Nachweis von nur in geringer Zahl in der Probe vorhandener MO möglich ist (Molander et al., 2002).

Sofern keine spezifische Detektion einiger Keime erwünscht ist, können die mit universellen Primerpaaren amplifizierte 16 S rDNA-Fragmente subkloniert und anschließend sequenziert werden. Dadurch wird auch die Identifikation bisher unbekannter oder nicht kultivierbarer Spezies in einer Probe ermöglicht (Petti et al., 2007).

Beim Vergleich von Kultivierungsmethoden mit PCR basierten Verfahren sind auch sicherheitstechnische Aspekte zu berücksichtigen. Proben für die PCR-Diagnostik können vor ihrer Verwendung ggf. hitzeinaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren), wodurch die Infektionsgefahr für den Durchführenden drastisch reduziert wird.

Ein weiterer molekularbiologischer Ansatz zur spezifischen Identifizierung von Mikroorganismen in einer Probe stellen DNA-DNA- oder DNA-RNA-Hybridisierungen dar. Diese Methode ist bei entsprechend gewählten stringenten Hybridisierungsbedingungen ebenfalls hochspezifisch (Rôças et al., 2010). Sie bedürfen jedoch eines größeren zeitlichen und materiellen Aufwands. Prinzipiell ist mit dieser Methode jedoch nicht nur eine qualitative, sondern auch eine semi-quantitative Bestimmung der Anzahl des Zielorganismus in der Probe möglich, wobei die Detektionsgrenze deutlich höher als die einer PCR basierten Methode liegt.

Einige Ansätze zur Detektion von spezifischen Keimen nutzen eine Kombination aus einer vorgeschalteten Amplifikationsreaktion mit einer anschließenden DNA-DNA-Hybridisierung (Eick et al., 2011). Ohne die Berücksichtigung der PCR-Effizienz ist jedoch eine zuverlässige Quantifizierung nur eingeschränkt möglich.

Die quantitative Real Time-PCR (qPCR) ist eine spezielle und hoch sensitive Variante der PCR. Sie vereinigt dabei die bereits oben beschriebenen Vorteile eines qualitativen PCR-gestützten Verfahrens und erweitert diese um die Möglichkeit der relativen oder sogar absoluten Quantifizierung der Zielgene und damit auch der Mikroorganismen (Saito et al., 2009). Diese Eigenschaften haben die qPCR im Verlauf der letzten Jahre sowohl im klinischen Alltag als auch in der Forschung zum Gold-Standard für die spezifische Detektion und Quantifizierung von Viren und Mikroorganismen heranreifen lassen (Espy et al., 2006).

Im Rahmen dieser Arbeit konnte auf ein etabliertes qPCR-Verfahren zur qualitativen und quantitativen Detektion von fünf pathogenen Leitkeimen der Parodontitis (A. actinomycetemcomitans, *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *P. intermedia* und *T. denticola*) zurückgegriffen werden. Dies ermöglicht die zuverlässige und reproduzierbare Bestimmung der entsprechenden Keimzahlen in einer Patientenprobe, so dass der Erfolg der beiden angewandten Parodontitis-Behandlungen überwacht und bewertet werden konnte.

Wie jede Methode hat auch die qPCR Nachteile bzw. Einschränkungen, die es im Vorfeld bei der Planung der Studie und später auch bei der Auswerten der gewonnen Daten zu beachten gilt. Die Methode differenziert z.B. nicht zwischen vitalen und inaktivierten Keimen, wodurch sie z.B. für Experimente zur Bestimmung der Wirksamkeit von bioziden Substanzen nur eingeschränkt von Nutzen ist. Im Laboralltag stellen, aufgrund der Sensitivität der Methode, DNA-Kontaminationen ein mitunter größeres Problem dar. Hierbei kann Fremd-DNA sowohl in den verwendeten PCR-Lösungen (Corless et al., 2000) als auch - aufgrund von Kontaminationen während der Probennahme im Mundraum - in der zu testenden Probe selbst sein (Zehnder et al., 2009). Dies kann in Folge zu falsch-positiven Ergebnissen führen. Von essentieller Bedeutung ist zudem eine möglichst hohe Qualität der DNA-Extraktion und damit auch der Reinheit der DNA. Bereits kleinste Verunreinigungen mit z.B. Proteinen können die Amplifikationseffizienzen in den Probe-Ansätzen verändern und somit den Vergleich mit den für die Quantifizierung notwendigen spezifischen DNA-

Standards bekannter Konzentrationen beeinflussen. Durch entsprechende Kontrollen während der Durchführung der Versuche (u.a. Inhibitions- und Negativkontrollen) und sorgfältiges Arbeiten können diese Störungen ggf. identifiziert und vermieden werden.

## 4.2 Diskussion der Ergebnisse

Bei der chronischen Parodontitis handelt es sich um eine infektiöse Erkrankung des Zahnhalteapparates, welche von Bakterien verursacht wird. Ein essentieller Bestandteil der Therapie besteht deshalb in der Elimination der verantwortlichen Keime bzw. zumindest einer Keimreduktion. Dieses Ziel wurde bisher durch mechanische Reinigung der Zahnfleischtasche, durch Scaling und Wurzelglätten verfolgt. Allerdings bestehen hinsichtlich dieser mechanischen Reinigung auch Limitationen. Sie ist schwierig, zeitaufwändig und manchmal auch ineffektiv. Um die Parodontitistherapie effektiver zu gestalten wird seit nunmehr 20 Jahren versucht die Effizienz mit antibakteriellen Substanzen zu steigern.

Lokale Antibiotika werden hierfür in der Literatur zum Einen als Monotherapie und zum Anderen als Adjuvans zur mechanischen Dekontamination eingesetzt.

Dass die Applikation lokaler Antibiotika ohne vorherige mechanische Reinigung keinerlei Verbesserung gegenüber der herkömmlichen Therapie zeigt, konnte in verschiedenen Studien bereits nachgewiesen werden (Etienne 2003).

Auch der Zeitpunkt der Anwendung lokaler antibakterieller Substanzen variiert. So wurden lokale Antibiotika sowohl während der Initialtherapie als auch nach Abschluss der Initialtherapie zur Behandlung einzelner Zahnfleischtaschen mit persistierender Entzündung eingesetzt.

Die vorliegenden Studien miteinander zu vergleichen ist aufgrund der großen Vielfalt lokaler Antibiotika und auch verschiedener Studiendesigns nur eingeschränkt möglich.

Eine abschließende Beurteilung des Einsatzes lokaler Antibiotika konnte, basierend auf den vorliegenden Daten, bislang nicht getroffen werden.

### 4.2.1 Klinische Ergebnisse

#### 4.2.1.1 Sondierungstiefen

Eines der Ziele in der Parodontaltherapie ist die Reduktion der ST. Diese Reduktion beruht auf zwei Effekten. Zum Einen kommt es durch Beseitigung der Entzündung zu einer Abschwellung der Gingiva (Gingivarezession), zum Anderen kommt es nach der Therapie zu einem klinischen Attachmentgewinn. Für eine Zahnfleischtasche von ursprünglich ca. 8 mm bedeutet dies z.B., dass sich die nach Therapie gemessene Taschenreduktion von 3 mm aus 2 mm Gingivarezession und 1mm klinischem Attachmentgewinn zusammensetzt (Claffey 2004).

Generell können Konkremente von der Wurzeloberfläche mittels Handinstrumenten (Gracey-Küretten) oder Schall- bzw. Ultraschallinstrumenten entfernt werden.

Das systematische Review von J. Tunkel 2002 bescheinigt nach Analyse von 27 Studien keinen Unterschied bei der Reduktion der ST zwischen Handinstrumenten und maschineller Reinigung. Die Reduktion der ST mittels Handinstrumenten bei Initialpatienten wird in diesem Review mit 0,77 – 1,4 mm, bei maschineller Reinigung mit 1,1 – 1,2 mm angegeben. Im Rahmen der Erhaltungstherapie liegt die Reduktion der ST deutlich unter der bei der Initialtherapie erzielten Reduktion. Die Reduktion durch maschinelle Reinigung lag bei 0,75 ±1,2 mm und bei Handinstrumentierung bei 0,72 ±1,09 mm (Tunkel 2002).

Die maschinelle Dekontamination der Wurzeloberfläche scheint nach der Therapie eine etwas rauhere Wurzeloberfläche zu hinterlassen, zeigt gegenüber Handinstrumenten aber auf der anderen Seite einen signifikanten Vorteil bei der Therapiedauer (Tunkel 2002). Auch im Furkationsbereich sind maschinelle Systeme den Handinstrumenten deutlich überlegen, da die Arbeitsenden graziler gestaltet sind und keinen Platz zur Durchführung von Scalingbewegungen benötigen (Claffey 2004). Die Vorteile der Handinstrumentierung liegen wiederum in einer besseren Taktilität und einer glatteren Wurzeloberfläche. Aus diesen Gründen scheint die Kombination aus maschineller Reinigung gefolgt von

Handinstrumentierung, wie in der vorliegenden Studie durchgeführt, die beste Methode der geschlossenen Therapie zu sein (Drisko 2001).

2001 wurde ein systematisches Review aus 27 Studien zur Effizienz der konventionellen PA-Therapie veröffentlicht. Dieses zeigt eine starke Abhängigkeit der Reduktion der ST von der initialen ST. Bei einer initialen ST von 1 bis 3mm ist eine Reduktion der ST nach Therapie von 0,03 mm, bei einer initialen ST von 4 bis 6 mm von 1,29 mm und bei einer initialen ST> 6 mm von 2,16 mm zu erwarten (Drisko 2001).

Aufgrund des starken Einflusses der initialen ST auf das Behandlungsergebnis (Drisko 2001, Claffey 2004) wurde in der vorliegenden Studie auf eine maximale ST-Differenz von 1 mm zwischen den zu vergleichenden Zähnen geachtet.

Im Vergleich zur initialen PA-Therapie ist im Rahmen der Erhaltungstherapie jedoch mit einer deutlich geringeren Reduktion der ST zu rechnen.

Heasman beschreibt z.B. in seinem Review 2002 eine Reduktion der ST im Rahmen der Erhaltungstherapie bei Patienten mit chronischer Parodontitis von 0,92 mm ±0,56SD.

Zusammenfassend ist bei einer Tasche mit ST≥ 5mm nach Initialtherapie (SRP) eine Reduktion der ST von 1 - 2 mm, im Rahmen der Erhaltungstherapie (SRP) von lediglich 0,5 - 1 mm zu erwarten.

In der hier vorliegenden Studie wurden ausschließlich Taschen mit einer ST≥ 5mm therapiert, die zuerst maschinell und anschließen manuell gereinigt wurden. Es wurden lediglich Patienten therapiert die bereits eine Initialtherapie erhalten hatten und sich somit in der Erhaltungstherapie befanden. Die ST in der Kontrollgruppe wurde dabei im Vergleich zur Baseline nach einem Monat im Mittel um 1,0 mm nach zwei Monaten um 1,4 mm und nach sechs Monaten um 1,5 mm reduziert. Die ST konnte nach sechs Monaten also deutlich stärker reduziert werden als von Tunkel 2002 und auch von Heasman 2002 für die Erhaltungstherapie beschrieben. Diese größere Reduktion der ST lässt sich evtl. dadurch erklären, dass aus der hier durchgeführten Kombination aus maschinellem und manuellem Scaling eine sehr gründliche Reinigung resultierte. Sie könnte aber auch darin begründet sein, dass lediglich Taschen mit persistierender parodontaler Entzündung therapiert

wurden, bei denen eine Reduktion der ST ähnlich wie bei der Initialtherapie zu erwarten wäre.
Ein weiterer Einflussfaktor auf die Reduktion der ST ist die Wurzeligkeit der Zähne. Bei mehrwurzligen Zähnen ist im Vergleich zu einwurzligen von einem deutlich geringeren Effekt der subgingivalen Reinigung auszugehen. Eberhard beschreibt 2008 bei Taschen mit initialer ST von 5 - 6 mm bei einwurzligen Zähnen eine Reduktion von 1,3 - 2,83 mm, bei mehrwurzligen Zähnen von lediglich 1 - 2,48 mm. Dieser Effekt wird auf die komplexe dreidimensionale Wurzelmorphologie von mehrwurzligen Zähnen im Furkationsbereich zurückgeführt.
Bei den in dieser Studie ermittelten Ergebnissen liegt, wie in der Literatur beschrieben, ebenfalls eine signifikant größere Reduktion der ST bei einwurzligen Zähnen vor ($p<0,01$).

In der Literatur sind bislang sechs Studien publiziert in denen Minocyclinmicrospheres als Adjuvans zu SRP bei Patienten mit chronischer Parodontitis eingesetzt wurden. Mit Ausnahme der Studien von Cortelli 2002 und Dean 2003 wurde das lokale AB einmalig und in unmittelbarem Anschluss an SRP verabreicht. In allen 6 Studien wurden die Patienten initial behandelt. Es ist bis dato keine Studie publiziert in der Minocyclinmicrospheres im Rahmen der Erhaltungstherapie verwendet wurde.
In einer neun- monatigen randomisierten Multicenter Studie konnte Williams 2001 bei 748 Patienten einen kleinen aber signifikanten Unterschied bei der Reduktion der Sondierungstiefe zwischen Test- (SRP und Minocyclinmicrospheres) und Kontrollgruppe (SRP) nachweisen. Die Reduktion der ST in der Testgruppe lag bei 1,32 mm, in der Kontrollgruppe bei 1,08 mm. Die Reduktion der ST in der Testgruppe mit AB war damit im Mittel um 0,24 mm stärker.
Cortelli stellte 2002 in einer randomisierten Doppelblindstudie eine signifikant stärkere Reduktion der ST in der Testgruppe (SRP und Minocyclinmicrospheres) nach neun und 12 Monaten gegenüber der Kontrollgruppe fest. Die mittlere ST der Testgruppe lag zur Baseline bei 7,47 mm ±0,74SD und konnte nach neun Monaten auf 3,97 mm ±1,01SD und nach 12 Monaten auf 3,80 mm ±0,8SD reduziert werden. Im Gegensatz zu der hier vorliegenden Studie wurde das lokale AB allerdings nicht einmalig, sondern mehrmalig, zur Baseline sowie drei Monate,

neun Monate und 12 Monate nach SRP, in alle Taschen≥ 6 mm gegeben. Nach 24 Monaten konnte jedoch kein signifikanter Unterschied bei der Reduktion der ST zwischen Test- und Kontrollgruppe mehr nachgewiesen werden.

In einer weiteren Studie, in der Minocyclinmicrospheres als Adjuvans zu SRP angewandt wurden, zeigte sich nach 30 Tagen eine Reduktion der Sondierungstiefe in der Testgruppe von 1,38 mm und in der Kontrollgruppe von 1,01 mm. Diese Differenz war statistisch signifikant (p=0,00004) (Goodson 2007).

Henderson beschreibt in seiner Studie 2002 eine mittlere Baseline-ST in der Testgruppe (SRP und Minocyclinmicrospheres) von 6,7 mm ±1,0SD und in der Kontrollgruppe (SRP) von 7,1 mm ±1,0SD.

Nach sechs Monaten konnte die ST in der Kontrollgruppe auf 5,2 mm ±1,2SD und in der Testgruppe auf 4,3 mm ±1,4SD reduziert werden. In beiden Fällen ergab sich eine signifikante Reduktion (p<0,01) zur Baseline. Obwohl die Reduktion der ST im Vergleich zur Baseline in der Testgruppe am größten ausfiel konnte allerdings kein signifikanter Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe festgestellt werden.

Van Dyke beschreibt in seiner Studie 2002 nach drei Monaten einen statistisch signifikanten Unterschied in der Reduktion der ST zwischen Test- mit Kontrollgruppe (p=0,008). Die mittlere ST in der Testgruppe (SRP und Minocyclinmicrospheres) wurde um 2,09 mm ±0,22SD reduziert, wohingegen in der Kontrollgruppe (SRP) die ST nur um 1,19 mm ±0,21SD reduziert wurde.

Nach sechs Monaten zeigte sich sowohl in der Testgruppe als auch in der Kontrollgruppe eine statistisch signifikante Reduktion der ST gegenüber Baseline. In der Testgruppe konnte eine Reduktion der mittleren ST um 1,93 mm ±0,21SD, in der Kontrollgruppe um 1,66 mm ±0,2SD gezeigt werden. Der Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe war nach sechs Monaten allerdings nicht mehr statistisch signifikant.

Dean beschreibt 2003 nach einem Monat eine zur Baseline signifikante Reduktion der ST bei Anwendung von SRP und Minocyclinmicrospheres um 1,36 mm ±0,61SD. Nach neun Monaten betrug die Reduktion 1,82 mm ±0,73SD und nach 12 Monaten 1,79 mm ±0,82SD. Im Gegensatz zu der hier vorliegenden Studie wurde das lokale AB nach drei und sechs Monaten bei ST≥ 5 mm nach erneutem SRP wiederholt verabreicht.

Zusammenfassend ist, basierend auf den vorliegenden Studien, bei adjuvanter Gabe von lokalem AB in Form von Minocyclinmicrospheres bei Initialtherapie eine Reduktion der ST zwischen 1,3 mm und 2,0 mm zu erwarten. Die auffallend große Reduktion der ST um 3,5 mm bei Cortelli scheint auf der mehrmaligen Gabe des lokalen ABs zu beruhen. Sowohl die Ergebnisse von Cortelli 2002 als auch von Dean 2003 können aufgrund des unterschiedlichen Studiendesigns in Form einer wiederholten Applikation des lokalen ABs nicht mit den anderen oder der hier vorliegenden Studie verglichen werden. In der hier vorliegenden Studie konnte sowohl in der Test- als auch der Kontrollgruppe die ST nach ein, drei, und sechs Monaten im Vergleich zur Baseline signifikant reduziert werden. Dies entspricht den Resultaten der anderen Studien. Die mittlere Reduktion der ST in der Testgruppe im Vergleich zur Baseline betrug nach einem Monat 1,2 mm, nach drei Monaten 1,2 mm und nach sechs Monaten 1,3 mm, was etwas unter den Ergebnissen der anderen Studien liegt. Allerdings ist der Grund für diese Differenz darin zu sehen, dass in der hier vorliegenden Studie Patienten in der Erhaltungstherapie und keine Initial-Patienten behandelt wurden.

Der Vergleich von Test- und Kontrollgruppe in der hier vorliegenden Studie ergab zu den Zeitpunkten M1 und M6 keine signifikanten Unterschiede. Dies steht zwar im Widerspruch zu den Ergebnissen von Williams, welcher nach neun Monaten eine signifikant größere Reduktion der ST in der Testgruppe erzielte, entspricht aber den Langzeitergebnissen von Cortelli nach 24 Monaten und von Van Dyke nach sechs Monaten. Auch Henderson konnte nach sechs Monaten keinen signifikanten Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe feststellen.

Zum momentanen Zeitpunkt muss also davon ausgegangen werden, dass die zusätzliche Anwendung eines lokalen ABs keine dauerhaft verstärkte Reduktion der ST bewirkt.

Es fanden sich keine Studien in welchen Minocyclinmicrospheres als Adjuvans zu SRP in der Erhaltungstherapie angewandt wurden.

#### 4.2.1.2 Relativer Attachmentlevel

Ein weiteres Ziel der Parodontaltherapie ist es klinisches Attachement zu gewinnen um dadurch die Taschentiefen zu reduzieren. Der klinische Attachmentlevel CAL ist die Distanz von Taschenfundus bis zu einem fixen koronalen Bezugspunkt der in dieser Studie mittels eines Plateaus auf einer individuell gefertigten Tiefziehschiene festgelegt wurde. ΔCAL beschreibt die Veränderung des klinischen Attachmentlevels ein, drei, und sechs Monate nach Therapie in Relation zum Baseline-CAL.

Auch beim ΔCAL zeigen die bis dato vorliegenden Daten, wie bei der ST, keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen maschinellen Systemen oder Handinstrumentierung. Tunkel bescheinigte in seinem Rewiew der Handinstrumentierung einen Attachmentgewinn von 0,3 mm bis 0,53 mm und den maschinellen Systemen von 0,2 mm bis 0,7 mm. Allerdings konnte auch hier gezeigt werden, dass im Rahmen der Erhaltungstherapie deutlich weniger Attachmentgewinn zu erwarten ist: 0,1 mm ±1,71mm bei Handinstrumenten und 0,2 mm ±1,34mm bei maschinellen Systemen.

Drisko zeigte 2001 in seinem systematischen Review, dass nicht nur die Reduktion der ST sondern auch der Attachmentgewinn von der initialen ST abhängig ist. Bei einer initialen ST von 1 mm bis 3 mm wird durch SRP ein Attachmentverlust von 0,34 mm verursacht. Aus diesem Grund sollen Zahnfleischtaschen< 4 mm auch nicht instrumentiert werden. Bei einer initialen ST von 3 mm bis 6 mm kann ein Attachmentgewinn von 0,5 mm und bei einer initialen ST> 6 mm von 1,19 mm erzielt/erwartet werden (Drisko 2001).

Die oben genannten Ergebnisse wurden auch im systematischen Review von Claffey 2004 bestätigt. Bei einer initialen ST< 4 mm führt eine Instrumentierung zu einem Attachmentverlust von 0,5 mm, bei einer initialen ST von 4 mm bis 6,5 mm zu einem Attchmentgewinn von 0 mm bis 1 mm und bei einer initialen ST≥ 7 mm zu einem Attachmentgewinn von 1 mm bis 2 mm (Claffey 2004).

Ein weiteres Review von 2000 beschreibt einen Attachmentgewinn von 0,55 mm bei initialer ST von 4 mm bis 6 mm sowie von 1,29 bei initialen ST> 6 mm (Greenstein 2000).

Bei Patienten in der Erhaltungstherapie ist allerdings, entsprechend der Reduktion der Sondierungstiefe, auch beim Attachmentlevel ein deutlich geringerer Gewinn zu erwarten als bei Initialtherapie-Patienten.
Heasman erzielte bei Erhaltungstherapie-Patienten mit chronischer Parodontitis einen durchschnittlichen Attachmentgewinn nach SRP von 0,5 mm ±0,44 mm.
Zusammenfassend kann bei initialer ST> 4 mm durch SRP bei Initialtherapie-Patienten von einem Attachmentgewinn von 0 - 1,29 mm ausgegangen werden. Im Rahmen der Erhaltungstherapie liegt der zu erwartende Attachmentgewinn bei lediglich 0,1 mm bis max. 0,5 mm.
In der hier vorliegenden Studie an Erhaltungstherapie-Patienten zeigte sich in der Kontrollgruppe nach einem Monat ein im Vergleich zur Baseline mittlerer Attachmentgewinn von 0,8 mm ±1,2SD, nach drei Monaten von 0,6 mm ±1,1SD und nach sechs Monaten von 0,6 mm ±1,3SD. Der Unterschied zur Baseline war in dieser Gruppe zu den Zeitpunkten M1, M3 und M6 statistisch signifikant. Dieser, im Vergleich zu anderen Studien, große Attachmentgewinn lässt sich wiederum durch die sehr gründliche Dekontamination, in Folge der Kombination von manueller und maschineller Reinigung, erklären.

SRP mit anschließender adjuvanter Gabe lokalem AB in Form von Minocyclinmicrospheres führt in einer Studie von Goodson nach 30 Tagen zu einem Attachmentgewinn von 1,16 mm und war statistisch signifikant besser als in der Kontrollgruppe mit 0,8 mm (Goodson 2007).
Henderson beschreibt in der Kontrollgruppe (SRP) nach drei Monaten einen mittleren Attachmentgewinn von 1,4 mm ±1,9SD und nach sechs Monaten von 1,3 mm ±1,3SD. In der Testgruppe, bei der Arestin als Adjuvans zu SRP eingesetzt wurde, betrug der mittlere Attachmentgewinn nach drei Monaten 1,7 mm ±1,2SD und nach sechs Monaten 2,1 mm ±1,5SD. Der Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe war allerdings statistisch nicht signifikant (Henderson 2002).
Van Dyke ermittelte in seiner Studie 2002 in der Testgruppe (SRP + Arestin) einen statistisch signifikant größeren Attachmentgewinn nach drei Monaten im Vergleich zur Baseline.
Der Attachmentgewinn nach drei Monaten war in der Testgruppe (SRP + Arestin) um 0,54 mm größer als in der Kontrollgruppe (SRP), was ebenfalls statistisch signifikant war.

Da in der Studie lediglich die Zeitpunkte erwähnt werden, an denen ein statistisch signifikanter Unterschied vorlag, kann davon ausgegangen werden, dass dies nach sechs Monaten weder zur Baseline noch im Vergleich zwischen Test- und Kontrollgruppe der Fall war.

In der hier vorliegenden Studie, in welcher Patienten in der Erhaltungstherapie therapiert wurden, lag in der Testgruppe (SRP + Arestin) nach einem Monat ein im Vergleich zur Baseline mittlerer Attachmentverlust von 0,06 mm ±1,4SD vor. Nach drei Monaten ergab sich ein mittlerer Attachmentgewinn von 0,14 mm ±1,4SD und nach sechs Monaten von 0,1 mm ±1,4SD. Zu keinem Untersuchungszeitpunkt ergab sich dabei ein signifikanter Unterschied des CAL im Vergleich zur Baseline.

In der Kontrollgruppe zeigte sich nach einem Monat ein mittlerer Attachmentgewinn von 0,8 mm ±1,2SD, nach drei Monaten von 0,6 mm ±1,1SD und nach sechs Monaten von 0,6 mm ±1,3SD. Nach einem, drei und sechs Monaten war der Unterschied im Vergleich zur Baseline signifikant (Abbildung 17).

Lediglich nach einem Monat konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe zugunsten der Kontrollgruppe (p=0,03) nachgewiesen werden.

Eine Erklärung für den reduzierten, bzw. verlangsamten, Attachmentgewinn in der Testgruppe könnte in der physischen Präsenz der Minocyclinmicrospheres liegen, die die Zahnfleischtasche in den ersten Wochen offen halten und die Bildung eines langen Saumepithels behindern. Erst nach ca. 30 Tagen sind die Polymerkugeln vollständig zu Kohlenstoffdioxid und Wasser abgebaut (Williams et al., 2001). Nach Freisetzung des Antibiotikums und Resorption des Trägerstoffes (PGLA) setzten dann die histologischen Heilungsprozesse verzögert ein.

Ausser der hier vorliegenden Arbeit ist keine Studie publiziert, in welcher Arestin als Adjuvans zu SRP im Rahmen der Erhaltungstherapie eingesetzt wurde. Eine abschließende Beurteilung bzgl. eines zusätzlich positiven Effekts der adjuvanten Gabe von Arestin in Form eines gesteigerten Attachmentgewinns kann daher momentan nicht getroffen werden.

#### 4.2.1.3 Bluten auf Sondieren

BOP wird als Parameter zur Ermittlung einer parodontalen Entzündung und damit auch zur Kontrolle der Effizienz der Parodontaltherapie herangezogen. BOP untersucht die Prävalenz einer Blutung aus der Taschentiefe, d.h. eine parodontitisassoziierte Blutung. Da es aber auch in Abwesenheit einer parodontalen Entzündung, bei vorliegender marginaler Gingivitis, zu BOP kommen kann, muss dieser Parameter kritisch hinterfragt werden. Auch zu großer Sondierungsdruck kann z.B. bei BOP ein falsch positives Ergebnis liefern. Der zweitgenannte negative Effekt kann durch druckkalibrierte Sonden, wie sie in der hier vorliegenden Studie verwendet wurden, umgangen werden. Hierfür sollte ein Sondierungsdruck von 0,25 N nicht überschritten werden (Mombelli 2000).

Da die Effizienz der subgingivalen Belagsentfernung von der initialen ST abhängt, muss auch BOP von der initialen ST abhängig sein. Claffey konnte in seiner Studie 2004 bei einer initialen ST von ≤ 3,5 mm einen Rückgang der BOP von 55 auf 15 % nachweisen. Bei einer initialen ST von 4 bis 6 mm sank BOP von 80 auf 30 % und bei einer initialen ST von ≥ 7 mm von 90 auf 30 %.

Wie bei ST und CAL konnte auch bei BOP kein Unterschied zwischen Handinstrumenten und maschinellen Systemen festgestellt werden. Die Reduktion der BOP bei Handküretten lag bei 52 - 63 % und bei maschineller Therapie bei 42,7 - 64 %.

In einem Review von 2002 wurde bei ST≥ 5 mm nach sechs bis zwölf Monaten ein BOP- Rückgang von initial 100 - 88 % auf 64 - 15 % ermittelt (Van der Weijden 2002).

Insgesamt kann also im Rahmen der geschlossenen Parodontaltherapie bei einer initialen BOP von 100 % mit einer Reduktion auf ca. 30 % gerechnet werden.

Allerdings konnte auch bei BOP gezeigt werden, dass bei wiederholter Instrumentierung im Rahmen der Erhaltungstherapie die Reduktion von BOP deutlich geringer ausfällt als bei der Initialtherapie (Tunkel 2002). Die Reduktion von BOP bei erneuter Instrumentierung beträgt lediglich 5,5 % (Tunkel 2002).

In der hier vorliegenden Studie an Erhaltungstherapie-Patienten konnte in der Kontrollgruppe ein signifikanter Rückgang von BOP zu den Untersuchungszeitpunkten M1, M3 und M6 nachgewiesen werden. Die

prozentuale Reduktion von BOP in der Kontrollgruppe im Vergleich zur BL betrug nach drei Monaten 81,6 % und nach sechs Monaten 93,9 %.

Im Vergleich zu Tunkel 2002 konnte in der hier vorliegenden Studie also eine deutlich stärkere Reduktion der BOP nachgewiesen werden.

2009 konnte in einer randomisierten Studie, in welcher 15 Patienten mit chronischer Parodontitis und ST von 5 - 8 mm therapiert wurden, in der Kontrollgruppe (SRP) nach sechs Monaten ein Rückgang von BOP um 66,7 % festgestellt werden. In der Testgruppe (SRP + Arestin) lag eine statistisch signifikant stärkere Reduktion von BOP um 90 % vor. In beiden Gruppen lag nach sechs Monaten eine signifikante Reduktion von BOP bezogen zur BL vor, allerdings bestand auch ein signifikanter Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe zugunsten der Testgruppe (Gopinath 2009).

In einer weiteren Studie in der Minocyclinmicrospheres als Adjuvans zum herkömmlichen SRP angewandt wurden, zeigte sich nach 30 Tagen ein Rückgang von BOP in der Testgruppe um 25,2 % und in der Kontrollgruppe von lediglich 13,8 %. Diese fast doppelt so hohe BOP-Reduktion in der Testgruppe war statistisch signifikant (p=0,009) (Goodson 2007).

Beim Vergleich dieser Studien zeigt sich ein doch gravierender Unterschied bezogen auf die prozentuale Reduktion von BOP, was eventuell auf den unzuverlässigen Parameter BOP zur Ermittlung einer parodontal persistierenden Entzündung zurückzuführen ist.

In der hier vorliegenden Studie konnte sowohl in der Kontroll- als auch in der Testgruppe ein signifikanter Rückgang von BOP zu den Untersuchungszeitpunkten M1, M3 und M6 im Vergleich zur BL nachgewiesen werden ($p<0,01$). Die prozentuale Reduktion von BOP nach sechs Monaten betrug in beiden Gruppen 93,9 %. Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe nach sechs Monaten nachgewiesen werden ($p=1,00$). Dies deutet, wie zuvor bei den Parametern ST und ΔCAL, darauf hin, dass auch für die Verbesserung des klinischen Parameters BOP vermutlich die mechanische Belagsentfernung (Instrumentierung) von entscheidender Bedeutung ist.

#### 4.2.1.4 Gingival-Index

Der Gingival-Index nach Silness und Löe gibt einen Überblick über den Zustand der marginalen Gingiva und dadurch über das Putzverhalten des Patienten. Es wird die Gingivitis-assoziierte Entzündung des marginalen Weichgewebes bestimmt. Bei inadäquater Mundhygiene führen supragingivale Beläge zu einer Entzündung der marginalen Gingiva, was sich in einer Erhöhung des Gingivalindexes wiederspiegelt. Die Entzündung der marginalen Gingiva geht meistens mit einer Schwellung des Zahnfleisches einher, welche dazu führt, dass sich die ST um 0,5 - 0,8 mm erhöht (Lowenguth 1995).
In der hier vorliegenden Studie war eines der Einschlusskriterien von vorn herein eine gute häusliche Mundhygiene. Da über den gesamten Beobachtungszeitraum bzgl. des GI kein signifikanter Unterschied (p=0,36) zwischen Test- und Kontrollgruppe bestand, muss dieser Faktor nicht weiter berücksichtigt werden.

#### 4.2.1.5 Plaque-Index

Der Plaque-Index nach Silness und Löe ist ein Maß für die Plaquemenge im Zahnhalsbereich unter Berücksichtigung der Zahnoberfläche, des Sulcus und des Gingivarandes. Er dient der objektiven Beurteilung der Mundgesundheit und des Putzverhaltens des Patienten.
Bei ST≥ 6 mm hat die supragingivale Plaquekontrolle keinen vorhersagbaren Einfluss auf die subgingivale Mikroflora. Bei ST≤ 6 mm führt eine kontinuierlich gute Mundhygiene über einen Zeitraum von 12 Wochen zu einer positiven Veränderung der subgingivalen Bakterienzusammensetzung und reduziert damit die sichtbaren Entzündungszeichen sowie BOP (Lowenguth 1995).
Bei Patienten mit chronischer Parodontitis und initialen ST von 4 - 5 mm führt allein die supragingivale Belagsentfernung (PZR) bereits zu einer Reduktion der mittleren ST von 4,6 mm auf 2,9 mm (Gomes 2007). Dieser Sachverhalt belegt die Wichtigkeit einer guten häuslichen Mundhygiene.
Da über die gesamte Dauer der hier vorliegenden Studie bzgl. des PI kein signifikanter Unterschied (p=0,10) zwischen Test- und Kontrollgruppe vorlag, hat

dieser Einflussfaktor ebenfalls keine entscheidende Auswirkung auf die Ergebnisse und wurde daher ebenfalls nicht weiter berücksichtigt.

### 4.2.2 Mikrobiologische Untersuchungen

Eine kontinuierlich gute supragingivale Plaquekontrolle ist in der Lage, die Entzündung der marginalen Gingiva sowie die Zusammensetzung der subgingivalen Mikroflora in Taschen≤ 6 mm positiv zu beeinflussen (Kho 1985). Um allerdings einen therapeutischen Erfolg in tieferen Taschen zu erzielen ist eine subgingivale Plaquekontrolle unabdingbar. Bereits 1985 konnte von Kho nachgewiesen werden, dass eine supragingivale Zahnreinigung keine signifikante Auswirkung auf die subgingivale Mikroflora bei ST> 6 mm hat (Kho 1985). Goldstandard hierbei ist die mechanische Dekontamination der Wurzeloberfläche.
Allerdings verbleiben auch bei sehr gründlicher mechanischer Reinigung der Wurzeloberfläche vereinzelte, bakteriell kontaminierte Areale. Dies ist vor allem dem z.T. schwierigen Zugang der sehr komplexen dreidimensionalen Wurzelmorphologie sowie der fehlenden Möglichkeit einer visuellen Überprüfung geschuldet. Bleibt die Anzahl der Bakterien oberhalb der individuell unterschiedlichen kritischen Masse, kommt es zu einem Fortschreiten der parodontalen Erkrankung (Lowenguth 1995).
Darby stellte bei einer Untersuchung des Effektes von SRP auf die subgingivale Mikroflora eine signifikante Reduktion der Keime *P.i., T.f.* und *T.d.* fest (Darby 2001).
Auch die Anzahl an *P.g.*, die eine entscheidende Rolle bzgl. der weiteren Progression einer Parodontitis spielt (Dougudomdacha 2001), konnte durch SRP signifikant reduziert werden (Haffajee 1997).
Andere Studien haben allerdings auch gezeigt, dass der Effekt von SRP auf *A.a.* recht gering ist (Greenstein 2000).
Insgesamt führt die konventionelle Instrumentierung initial zu einer sehr starken Reduktion der subgingivalen Plaque, wobei die Keimanzahl in den folgenden sechs Monaten jedoch wieder ansteigt (Drisko 2001).

Die Anzahl der gram-negativen Keimen wird durch die Instrumentierung stark verringert, das Wachstum gram-positiver, weniger parodontalpathogenen Keime gefördert (Greenstein 2000).
Bis dato liegen nur sehr wenige Studien vor, welche den Effekt einer lokalen Applikation von Minocyclinmicrospheres in die Zahnfleischtasche auf die Zusammensetzung des subgingivalen Biofilmes bzw. die Anzahl der parodontahlpathogenen Keime untersucht haben.

#### 4.2.2.1 Keimzahlen von *A.a., P.g., T.f., P.i.*, und *T.d.*

Die chronische Parodontitis wird primär durch eine Zunahme der Quantität der oralen Mikroflora verursacht. Bei der Entstehung und Progression parodontaler Erkrankungen spielen dabei vor allem die parodontalpathogenen Keime *A.a., P.g., T.f., P.i.,* und *T.d*. eine entscheidende Rolle.
Moderne molekularbiologische Techniken haben es in den letzten Jahren erst möglich gemacht, diese spezifisch mit der Parodontitis vergesellschafteten Bakterien nicht nur zu detektieren sondern auch zu quantifizieren. Zu den häufigsten verwendeten Verfahren, für deren Genauigkeit auch eine gesicherte Studienlage vorliegt, zählen die DNA-DNA-Hybridisierung sowie die quantitative Polymerase-Kettenreaktion (Ishikawa 2004).
Xajigeorgiou untersuchte 2006 den Effekt von SRP auf *A.a.* bei Patienten mit aggressiver Parodontitis. Der Keimnachweis erfolgte mittels DNA-DNA-Hybridisierung, SRP mittels Schallküretten und anschließender Politur. In dieser Studie war es nicht möglich *A.a.* durch alleiniges SRP signifikant zu reduzieren.

Derdilopoulou untersuchte 2007 den Effekt manueller Küretten und Schallküretten auf die subgingivale Anzahl der parodontalpathogenen Bakterien *A.a., P.g., T.f., P.i.,* und *T.d.* bei Patienten mit chronischer Parodontitis. Die mikrobiologischen Ergebnisse wurden durch Polymerasekettenreaktion/DNA-Hybridisierung (Micro-IDdent Test, Hain Lifescience, Nehren, Germany) ermittelt. Die absoluten Keimzahlen aller Bakterien wurden in Score-Werte unterteilt. Ein Score-Wert von 0 stand für eine Keimanzahl< $10^3$, ein Score-Wert von 1 für eine Keimanzahl von $10^3$, ein Score-Wert von 2 für Keimzahlen zwischen $10^3$ und $10^4$, ein Score-Wert

von 3 für Keimzahlen zwischen $10^4$ und $10^5$ und ein Score-Wert von 4 für Keimzahlen> $10^5$.

In dieser Studie konnte der mittlere Score-Wert von *A.a.* drei Monate nach der Therapie durch Handküretten von Baseline 1,14 ±0,2SD auf 0,72 ±0,15SD gesenkt werden. Diese Reduktion war statistisch signifikant (p=0,001). Nach sechs Monaten stieg der Mittelwert allerdings wieder auf 0,92 ±0,17SD an und es konnte keine signifikante Reduktion im Vergleich zur Baseline mehr nachgewiesen werden (p=0,1038). Bei der maschinellen Wurzeldekontamination betrug der Mittelwert zur Baseline 0,82 ±0,17SD, nach drei Monaten 0,61 ±0,14SD, dies entsprach ebenfalls einer signifikanten Reduktion (p<0,0001). Wie auch bei den Handküretten stieg der Mittelwert nach sechs Monaten wieder auf 0,86 ±0,16SD und damit über das Signifikanzniveau.

Im Gegensatz zu Derdilopoulou und Xajigeorgiou ergab sich in der hier vorliegenden Studie durch SRP (Kontrollgruppe) nach sechs Monaten eine signifikante Keimreduktion (p=0,05) von *A.a.* im Vergleich zur Baseline (Abbildung 21). Der Median der logarithmierten Keimanzahl von *A.a.* betrug zur Baseline 2,5 IQR 3,1 und konnte nach sechs Monaten auf 0,0 IQR 3,0 reduziert werden. Dies deutet darauf hin, dass die hier durchgeführte Kombination aus maschinellem und manuellem Debridement eine sehr hohe Effizienz hinsichtlich der Reduktion von *A.a.* aufweist.

Es sind momentan lediglich zwei Studien publiziert, welche die Keimreduktion von lokal angewandten Minocyclinmicrospheres als Adjuvans zu SRP untersucht haben. Allerdings ist die Vergleichbarkeit der hier vorliegenden Studie mit diesen Studien nur einschränkt möglich, da hier im Gegensatz zu den anderen Studien Patienten im Rahmen der Erhaltungstherapie therapiert wurden und nicht im Rahmen der Initialtherapie.

Goodson therapierte 2007 127 Patienten mit einer mittelschweren bis schweren chronischen Parodontitis. Innerhalb von zehn Tagen wurden alle Zahnfleischtaschen≥ 5 mm kürettiert und in der Testgruppe zusätzlich eine „Single-Dose“ mit 1mg Minocyclin (Arestin) verabreicht. Die Bakterienentnahme erfolgte mit einer sterilen Gracey-Kürette, die anschließende Bakterienbestimmung durch DNA-Hybridisierung.

Die mittlere Keimanzahl von *A.a.* betrug in der Testgruppe zur Baseline $1,04*10^5$ ±0,18SD und wurde nach 30 Tagen um $0,17*10^5$ ±0,14SD reduziert. Dieser Unterschied erwies sich als nicht signifikant. In der Kontrollgruppe (SRP) kam es sogar zu einer Zunahme der Keimanzahl an *A.a.*, allerdings war auch diese nicht signifikant (Goodson 2007). Ob ein signifikanter Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe vorlag wurde für diesen Keim leider nicht untersucht bzw. publiziert.

In einer Studie von Cortelli 2008 wurden 30 Patienten mit chronischer Parodontitis in der Kontrollgruppe mit SRP und einem Placebo, in der Testgruppe mit SRP und Arestin (Arestin™, OraPharma, Inc., Warmister, PA, USA) therapiert. Arestin und das Placebo wurden allerdings nicht wie in der hier vorliegenden Studie einmalig, sondern unmittelbar nach SRP und zusätzlich 3, 6, 9, 12 und 24 Monate nach SRP in Taschen≥ 6 mm verabreicht. Der Keimnachweis erfolgte durch Polymerase-Kettenreaktion, allerdings wurde nicht die Anzahl an Bakterien gemessen, sondern lediglich eine dichotome Entscheidung (ja/nein) über das Vorhandensein eines bestimmten Bakteriums getroffen. Mit Hinblick auf die Prävalenz der Parodontitiserreger zeigten die Resultate von Cortelli weder nach 24 Monaten (Fisher`s Exact test, $p<0,05$) noch zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten (Friedman test, $p<0,05$) signifikante Unterschiede zwischen Test- und Kontrollgruppe. Warum die Möglichkeit der PCR hinsichtlich einer zumindest semiquantitativen Aussage nicht genutzt bzw. publiziert wurde, wird von den Autoren nicht berichtet. Dies ist insofern bedauerlich, da bekannt ist, dass eine völlige Eradikation der Parodontitiserreger nur sehr selten gelingt und eine Verbesserung des Krankheitsbildes häufig auch schon durch eine deutliche Reduktion der Keimzahlen erreicht werden kann.

In der hier vorliegenden Studie lag in der Testgruppe zu keinem Untersuchungszeitpunkt eine signifikante Keimreduktion von *A.a.* im Vergleich zur Baseline (Abbildung 21) vor ($p>0,46$). Allerdings waren aufgrund des Baseline-Wertes der Testgruppe (mittlere Keimzahl 0,00 IQR 2,6) weitere Vergleiche mit den *A.a.*-Daten der Testgruppe leider nicht möglich. Aussagen zu der Effizienz von Arestin bei mit *A.a.* infizierten Taschen können daher nicht gemacht werden.

Bei Xajigeorgiou 2006 konnte zur Baseline in 90,9 % der Zahnfleischtaschen *P.g.* nachgewiesen werden. Dieser prozentuale Anteil verringerte sich durch SRP nach sechs Wochen auf 72,7 % und stieg nach sechs Monaten wieder auf 81,8 % an.
Derdilopoulou untersuchte in seiner Studie 2007, wie bereits erwähnt, ebenfalls den Effekt von SRP auf *P.g.*. Er zeigte, dass bei einer ST zwischen 4 und 6 mm der Score Wert von *P.g.*, welcher initial 2,06 ±0,15SD betrug, durch Handkürettage nach drei Monaten signifikant auf 1,29 ±0,14SD zur Baseline gesenkt gesenkt werden konnte. Nach sechs Monaten stieg der Score Wert wieder auf 1,78 ±0,14SD an und überstieg dabei das Signifikanzniveau. Bei der maschinellen Kürettage lag zur Baseline ein Score Wert von 1,92 ±0,16SD vor, welcher nach drei Monaten signifikant auf 1,06 ±0,13SD gesenkt wurde und nach sechs Monaten wieder auf 1,54 ±0,13SD anstieg. Nach sechs Monaten konnte keine statistisch signifikante Reduktion mehr nachgewiesen werden.
In der Kontrollgruppe der hier vorliegenden Studie (Kombination aus maschineller und manueller Therapie) lag zu den Untersuchungszeitpunkten W1, M1 und auch zu M6 eine signifikante Reduktion von *P.g.* ($p<0,01$) im Vergleich zur Baseline vor (Abbildung 22). Lediglich zu M3 konnte keine signifikante Reduktion ermittelt werden ($p=0,12$). Dies zeigt erneut, wie schon bei *A.a.* beschrieben, die Effizienz der hier durchgeführten Kombination aus maschineller und manueller Therapie.

Auch Goodson wies 2007 in seiner Testgruppe (SRP+Minocyclinmicrospheres) eine statistisch signifikante Reduktion von *P.g.* nach 30 Tagen nach. Die mittlere Keimanzahl an *P.g.* konnte nach 30 Tagen von Baseline $5,61*10^5$ ±1,17SD auf $1,9*10^5$ reduziert werden. In seiner Kontrollgruppe (SRP) konnte keine signifikante Keimreduktion ermittelt werden.
In der Testgruppe (SRP + Arestin) der hier vorliegenden Studie lag zu allen Untersuchungszeitpunkten, mit Ausnahme zu M6 ($p=0,96$), eine signifikante Keimreduktion zur Baseline vor. Drei Monate nach Therapie zeigte die Testgruppe eine signifikant größere Keimreduktion als die Kontrollgruppe ($p=0,05$). Die mikrobiologischen Ergebnisse der hier untersuchten Testgruppe sind vergleichbar mit den von Goodson publizierten Ergebnisse. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass im Unterschied zu Goodson hier auch die Kontrolltherapie bereits zu einer signifikanten Keimreduktion führte. Tendenziell scheint die adjuvante Gabe von Arestin jedoch zumindest in den ersten drei Monaten eine etwas größere

Reduktion an *P.g.* zu bewirken. Nach sechs Monaten kommt es offensichtlich zu einer erneuten Zunahme des parodontalpathogenen Keims *P.g.*.

Xajigeorgiou konnte 2006 bei seinen Patienten mit aggressiver Parodontitis den Keim *T.f.* zur Baseline in 81,8 % der Zahnfleischtaschen nachweisen. Durch SRP konnte nach sechs Wochen die Anzahl positiver Stellen auf 54,5 % und nach sechs Monaten sogar auf 27,3 % gesenkt werden.
In der Studie von Derdilopoulou 2007 konnten die *T.f.* Score-Werte nach drei Monaten durch manuelle Kürettage von 1,64 ±0,14SD auf 0,92 ±0,12SD reduziert werden. Allerdings stieg der Wert nach sechs Monaten wieder auf 1,38 ±0,13SD an. Bei der maschinellen Kürettage wurde der Score-Wert von 1,74 ±0,13SD auf 0,9 ±0,13SD nach drei Monaten reduziert und stieg nach sechs Monaten wieder auf 1,29 ±0,13SD an.
In der hier vorliegenden Studie zeigte sich in der Kontrollgruppe zu W1 und M1 eine signifikante Keimreduktion bezogen auf Baseline (W1: $p \leq 0,01$; M1: $p=0,01$). Nach drei und sechs Monaten konnte allerdings keine signifikante Keimreduktion von *T.f.* mehr festgestellt werden ($p>0,06$). Unter Berücksichtigung der bereits zuvor beschriebenen Effizienz der hier durchgeführten Kombination aus maschinellem und manuellem Scaling, scheint *T.f.* durch mechanische Therapie also lediglich für einen Monat signifikant reduziert werden zu können.
Goodson konnte 2007 nach 30 Tagen auch durch die adjuvanten Gabe von Minocyclinmicrospheres keine signifikante Reduktion von *T.f.* im Vergleich zu SRP alleine nachweisen. Die mittlere Keimanzahl wurde nach 30 Tagen von $9,16*10^5$ ±1,93SD auf $4,84*10^5$ reduziert.
In der hier vorliegenden Studie zeigt sich sowohl in der Test- als auch der Kontrollgruppe eine signifikante Reduktion der Keimzahlen von *T.f.* in der frühen Phase der Therapie (W1 und M1), was primär auf die hohe Effizienz der mechanischen Reinigung zurückzuführen ist. Die Testgruppe zeigte ein und drei Monate nach Therapie eine signifikant stärkere Keimreduktion als in der Kontrollgruppe. Dies spricht, ähnlich wie bei *P.g.,* für eine tendenziell stärkere Keimreduktion durch die adjuvante Gabe von Arestin in den ersten drei Monaten. Nach sechs Monaten ist dieser zusätzliche Effekt allerdings nicht mehr zu beobachten.

In der Studie von Derdilopoulou 2007, war es durch manuelle Kürettage möglich, *P.i.* nach drei Monaten im Mittel von 0,99 ±0,16SD auf 0,60 ±0,12SD zu reduzieren. Nach sechs Monaten stieg der Wert wieder auf 0,83 ±0,15SD an. Die maschinelle Therapie ermöglichte eine Reduktion des mittleren Score-Wertes nach drei Monaten von 1,18 ±0,16SD auf 0,36 ±0,09SD. Nach sechs Monaten stieg auch hier der Wert wieder auf 0,68 ±0,11SD an.

In der hier vorliegenden Studie lag in der Kontrollgruppe zu den Untersuchungszeitpunkten W1, M3 und M6 eine signifikante Keimreduktion ($p \leq 0,01$) im Vergleich zu Baseline vor, was wiederum für die hohe Effizienz der durchgeführten mechanischen Reinigung spricht.

Goodson konnte in seiner Testgruppe (SRP und Minocyclinmicrospheres) nach 30 Tagen keine signifikante Keimreduktion von *P.i.* fest. Die Keimanzahl verringerte sich im Mittel von $7,26*10^5$ ±2,92SD lediglich um $1,82*10^5$ ±1,57SD.

Im Gegensatz zu Goodson lag in der Testgruppe der hier vorliegenden Studie nach W1 ($p=0,01$) und M3 ($p=0,02$) eine signifikante Keimreduktion in Bezug zur Baseline vor.

Der Gruppenvergleich zeigt auch bei *P.i.* bis zu drei Monate nach der Therapie eine signifikant stärkere Keimreduktion in der Testgruppe. Nach sechs Monaten war dieser Effekt nicht mehr nachweisbar. Dies spricht wiederum für verstärkte Keimreduktion durch die adjuvante Gabe von Minocyclinmicrospheres in der frühen posttherapeutischen Phase.

Xajigeorgiou ermittelte 2006 eine Reduktion der Keimanzahl an *T.d.* durch SRP bei Patienten mit aggressiver Parodontitis von 81,8 % auf 36,4 %.

Derdilopoulou beschreibt 2007 *T.d.* Score-Werte zur Baseline von 1,28 ±0,13SD. Diese konnten nach drei Monaten durch manuelle Kürettage im Mittel auf 0,82 ±0,11SD gesenkt werden. Nach sechs Monaten stieg diese Zahl wieder auf 1,18 ±0,12SD an. Durch maschinelle Kürettage konnte nach drei Monaten eine Reduktion von 1,51 ±0,12SD auf 0,64 ±0,1SD erreicht werden, nach sechs Monaten nahm die Keimanzahl wieder zu (1,08 ±0,12SD).

In der Kontrollgruppe der hier vorliegenden Studie zeigte sich zu W1 (Keimzahl 3,1 IQR 3,2), M3 (Keimzahl 3,7 IQR 3,2) und M6 (Keimzahl 3,8 IQR 3,3) eine signifikante Keimreduktion von *T.d.* ($p \leq 0,03$) im Vergleich zur Baseline, was erneut die Effizienz der hier durchgeführten Reinigung bestätigt.

In der nun schon mehrfach beschriebenen Studie von Goodson 2007 konnte *T.d.* in der Testgruppe ebenfalls zahlenmäßig verringert werden, allerdings ergab sich keine statistische Signifikanz. Die mittlere Keimanzahl betrug zur Baseline $4{,}34*10^5$ ±0,43SD und konnte nach 30 Tagen um $1{,}40*10^5$ ±0,38SD reduziert werden. In der hier vorliegenden Studie lag in der Testgruppe zu allen Untersuchungszeitpunkten eine signifikante Keimreduktion im Vergleich zur Baseline vor ($p<0{,}01$).

Auch bei *T.d.* erzielte die adjuvante Therapie mit Arestin innerhalb der ersten drei Monate eine signifikant stärkere Keimreduktion als alleiniges SRP. Dieser zusätzliche antibakterielle Effekt scheint aber nach sechs Monaten wiederum zu verschwinden bzw. nicht länger als drei Monate anzuhalten.

Derdilopoulou ermittelte 2007 für alle Keime summiert (*A.a., P.g., T.f., P.i.* und *T.d.*) ebenfalls Score-Werte. In der manuell therapierten Gruppe betrug der Score-Wert zur Baseline im Mittel 7,1 ±0,49SD und konnte nach drei Monaten auf 4,35 ±0,46SD reduziert werden. Nach sechs Monaten stieg der Score-Wert wieder etwas an und erreichte 6,03 ±0,43SD. Durch maschinelle Dekontamination der Wurzeloberfläche konnte der Score-Wert von initial 7,17 ±0,46SD auf 3,57 ±0,39SD nach drei Monaten gesenkt werden. Nach sechs Monaten war ein erneuter Anstieg auf 5,46 ±0,41SD zu verzeichnen.

In der hier vorliegenden Studie konnte in der Kontrollgruppe zu den Zeitpunkten W1 und M1 ebenfalls eine signifikante Reduktion der summierten Keime bezogen zur Baseline festgestellt werden ($p\leq 0{,}04$).

Der Gruppenvergleich zeigte auch bei den summierten Keimzahlen eine stärkere Keimreduktion durch die adjuvante Antibiotikatherapie in der frühen posttherapeutischen Phase (W1, M1) (W1: $p=0{,}01$; M1: $p<0{,}01$).

Da weder in der Studie von Goodson 2007 noch in der von Cortelli 2008 die Keimanzahlen summiert wurden können sie auch nicht mit der hier vorliegenden Studie verglichen werden. In der Studie von Cortelli 2008 zeigte sich, dass weder SRP noch SRP plus Arestin als Adjuvans einen dauerhaft reduzierenden Effekt auf die parodontalpathogenen Keime über einen Zeitraum von 24 Monate erzielen. Dies entspricht auch den Ergebnissen der hier vorliegenden Studie, die lediglich auf einen zusätzlichen Effekt des lokalen Antibiotikums während der frühen Phase, unmittelbar nach der Therapie, hindeutet.

## 4.3 Schlussfolgerungen

Die wissenschaftliche Fragestellung ob eine Kombination aus SRP und anschließender lokaler Antibiotika-Therapie mit Arestin bei Taschen, die nach abgeschlossener Initialtherapie weiterhin Blutung bzw. einen Attachmentverlust aufweisen, die klinischen Entzündungsparameter Taschentiefe, Plaque-Index, Gingival-Index und Pussuppuration stärker reduzieren als SRP allein, kann, basierend auf den Ergebnissen der hier vorliegenden Studie, mit “Nein“ beantwortet werden. Zwar konnte bei den Parametern ST, CAL, BOP, GI und PI eine deutliche Verbesserung gegenüber den klinischen Ausgangswerten bei Baseline erzielt werden, allerdings zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe.
Dieser mangelnde Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe bzgl. der klinischen Parameter ist höchstwahrscheinlich in erster Linie auf die effiziente mechanische Reinigung, bestehend aus einer Kombinationstherapie von maschinellem und manuellem Debridement, zurückzuführen.
Als weitere Möglichkeit wäre natürlich der fehlende Effekt einer adjuvanten lokalen Antibiotikatherapie auf die klinischen Parameter zu nennen.
Ebenfalls berücksichtigt werden muss eine möglicherweise inhibitorische Wirkung des lokalen Antibiotikums auf die histologischen Heilungsprozesse nach SRP. So ist es z.B. vorstellbar, dass die alleinige physische Präsenz des lokalen Antibiotikums bzw. seines Trägerstoffs über bis zu 30 Tage die Heilungsprozesse und dabei insbesondere die Ausbildung eines erneuten epithelialen Attachments sowie den Verschluss der Tasche behindern.

Die mikrobiologischen Ergebnisse der quantitativen Real-Time PCR dieser Studie deuten an, dass die adjuvante Anwendung von Arestin bei den meisten der hier untersuchten parodontalpathogenen Erregern zumindest in der frühen posttherapeutischen Phase eine zusätzliche Keimreduktion bewirken kann. Diese zusätzliche antimikrobielle Wirkung scheint aber maximal ca. drei Monate anzuhalten und war nach sechs Monaten bereits nicht mehr messbar bzw. statistisch signifikant.

Die Frage der klinischen Relevanz dieses antimikrobiellen Effekts in der frühen Heilungsphase kann zu diesem Zeitpunkt nicht beantwortet werden und erfordert weitere, evtl. auch länger andauernde, Untersuchungen.
Ebenfalls zu untersuchen wäre, insbesondere bei Patienten in der Erhaltungstherapie, welche Verbesserungen der klonischen und mikrobiologischen Parameter durch eine mehrmalige Anwendung des lokalen Antibiotikums erzielt werden könnten.

Zum momentanen Zeitpunkt bzw. basierend auf den bis dato vorliegenden Daten ist ein adjuvanter Einsatz des lokalen Antobiotikums Arestin bei Patienten nach abgeschlossener Intialtherapie nur zu empfehlen, wenn auch ein erneuter Versuch der subgingivalen Instrumentierung zu keiner Verbesserung der klinischen Situation führt.
Interessant wäre zu untersuchen, inwieweit der beobachtete, zusätzliche antimikrobielle Effekt durch Arestin in der frühen Phase nach SRP im Rahmen der regenerativen Paodontaltherapie genutzt werden könnte. So wäre es z.B. denkbar, daß bei der Vorbehandlung von schwer zugänglichen vertikalen Defekten oder Furkationsdefekten durch die adjuvante Anwendung von Arestin eine verbesserte Keimreduktion und dadurch ein verbessertes regeneratives Ergebnis erzielt werden könnte.

# 5. Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es, die Wirksamkeit einer adjuvanten lokalen Antibiotikagabe nach konventionellem Scaling und Wurzelglätten (SRP), im Vergleich zu konventionellem SRP alleine, zu ermitteln.

Zunächst wurden 11 Patienten, die an einer leichten oder mittelschweren chronischen Parodontitis erkrankt waren und nach der Initialtherapie noch Taschentiefen von ≥ 5 mm mit persistierender Blutung bzw. Attachmentverlust aufweisen, rekrutiert. Die zu behandelnde Zahnfleischtaschen wurden randomisiert entweder der Kontroll- oder der Testgruppe zugeteilt. Die Durchführung der Studie erfolgte im Split-Mouth-Design.

Die Zahnfleischtaschen der Kontrollgruppe wurden durch SRP und anschließende Taschenspülung mit steriler NaCl-Lösung therapiert.

Die Zahnfleischtaschen der Testgruppe wurden, im unmittelbaren Anschluss an SRP, zusätzlich mit dem lokalen Antibiotikum Arestin behandelt.

Die erhobenen klinischen Parameter waren Taschen-Sondierungstiefe, relativer Attachmentlevel, Bluten auf Sondieren und/oder Pusentleerung, Gingivaindex und Plaqueindex nach Silness und Löe. Zusätzlich wurden im Rahmen einer mikrobiologischen Diagnostik die Keimzahlen der Parodontitiserreger *Aggregatibacter actinomycetemcomitans (A.a.), Porphyromonas gingivalis (P.g.), Tannerella forsythensis (T.f.), Prevotella intermedia (P.i.)* und *Treponema denticola (T.d.)* durch Realtime-Polymerase-Kettenreaktion bestimmt.

Diese Messparameter wurden zur Baseline sowie eine Woche, einen, drei und sechs Monate nach der Therapie erhoben. Die Studie wurde als Einfachblindstudie durchgeführt. Für die Messung der Taschen-Sondierungstiefe und des relativen Attachmentlevels wurde eine computergestützte, druckkalibrierte Sonde (Florida-Probe) verwendet. Zur Ermittlung des relativen Attachmentlevels wurden zusätzlich Tiefziehschienen aus 1 mm starkem Kunststoff angefertigt.

Nach der Therapie zeigte sich sowohl in der Test- als auch der Kontrollgruppe eine deutliche Verbesserung der klinischen Parameter im Vergleich zur Baseline. Bei der Reduktion der Taschen-Sondierungstiefe und bei Bluten auf Sondieren war diese Verbesserung auch nach sechs Monaten in beiden Gruppen noch statistisch signifikant. Es konnte allerdings nach sechs Monaten kein statistisch

signifikanter Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Dieser mangelnde Unterschied zwischen Test- und Kontrollgruppe bzgl. der klinischen Parameter ist höchstwahrscheinlich in erster Linie auf die effiziente mechanische Reinigung, bestehend aus einer Kombinationstherapie von maschinellem und manuellem Debridement zurückzuführen. Als weitere Möglichkeit wäre natürlich der fehlende Effekt einer adjuvanten lokalen Antibiotikatherapie auf die klinischen Parameter zu nennen. Ebenfalls berücksichtigt werden muss eine möglicherweise inhibitorische Wirkung des lokalen Antibiotikums auf die histologischen Heilungsprozesse nach SRP. So ist es z.B. vorstellbar, dass die alleinige physische Präsenz des Antibiotikums bzw. seines Trägerstoffes über bis zu 30 Tagen die Heilungsprozesse und dabei insbesondere die Ausbildung eines erneuten epithelialen Attachments sowie den Verschluss der Tasche behindern.

Die mikrobiologischen Ergebnisse der quantitativen Real_Time PCR dieser Studie deuten an, dass die adjuvante Anwendung von Arestin bei den meisten der hier untersuchten parodontalpathogenen Erregern zumindest in der frühen posttherapeutischen Phase eine zusätzliche Keimreduktion bewirken kann. Diese zusätzliche antimikrobielle Wirkung scheint maximal ca. drei Monate anzuhalten und war nach sechs Monaten nicht mehr statistisch signifikant.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die hier vorliegenden Ergebnisse einer zusätzlich adjuvanten Gabe von Arestin lediglich auf einen kurzfristigen antimikrobiellen Effekt hindeuten. Basierend auf den bis dato vorliegenden Daten ist ein adjuvanter Einsatz des lokalen Antobiotikums Arestin bei Patienten nach abgeschlossener Intialtherapie nur zu empfehlen, wenn auch ein erneuter Versuch der subgingivalen Instrumentierung zu keiner Verbesserung der klinischen Situation führt.

Interessant wäre zu untersuchen, inwieweit der beobachtete, zusätzliche antimikrobielle Effekt durch Arestin in der frühen Phase nach SRP im Rahmen der regenerativen Paodontaltherapie genutzt werden könnte. So wäre es z.B. denkbar, dass bei der Vorbehandlung von schwer zugänglichen vertikalen Defekten oder Furkationsdefekten durch die adjuvante Anwendung von Arestin eine verbesserte Keimreduktion und dadurch ein verbessertes regeneratives Ergebnis erzielt werden könnte.

# 6. Literaturverzeichnis

1. Aimetti M, Romano F, Torta I, Cirillo D, Caposio P, Romagnoli R: Debridement and local application of tetracycline-loaded fibres in the management of persistent periodontitis: results after 12 months. J Clin Periodontol 31: 166-172 (2004).

2. Armitage GC: Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol 4: 1-6 (1999).

3. Azarpazhooh A, Shah PS, Tenenbaum HC, Goldberg MB: The Effect of Photodynamic Therapy for Periodontitis: A Systemic Review and Meta-Analysis. J Periodontol 81: 4-14 (2010).

4. Bergström J: Periodontitis and smoking: an evidence-based appraisal. J Evid Based Dent Pract 6: 33-41 (2006).

5. Braun A, Dehn C, Krause F, Jepsen S: Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. J Clin Periodontol 35: 877-884 (2008).

6. Claffey N, Polyzois I, Ziaka P: An overview of nonsurgical and surgical therapy. Periodontol 2000 36: 35-44 (2004).

7. Claffey N, Polyzois I, Ziaka P: An overview of nonsurgical and surgical therapy. Periodontol 2000 36: 35-44 (2004).

8. Cook V.J, Turenne C.Y, Wolfe J, Pauls R, Kabani A: Conventional methods versus 16S ribosomal DNA sequencing for identification of nontuberculous mycobacteria: cost analysis. J Clin Microbiol 41: 1010-1015 (2003).

9. Corless C.E: Contamination and sensitivity issues with a real-time universal 16S rRNA PCR. J Clin Microbiol 38: 1747-1752 (2000).

10. Cortelli JR, Aquino DR, Cortelli SC, Carvalho-Filho J, Roman-Torres CVG: A double-blind randomized clinical trial of subgingival minocycline for chronic periodontitis. Journal of Oral Science 50: 259-265 (2008).

11. Daneshmand N, Jorgensen MG, Nowzari H, Morrison JL, Slots J: Initial effect of controlled release chlorhexidin on subgingival microorganisms. J Periodont Res 37: 375-379 (2002).

12. Darby IB, Mooney J, Kinane DF: Changes in subgingival microflora and humoral immune response following periodontal therapy. J Clin Periodontol 28: 796-805 (2001).

13. Dean JW, Branch-Mays GL, Hart TC, Reinhardt RA, Shapiro B, Santucci EA, Lessem J: Topically applied minocycline microspheres: why it works. Compend Contin Educ Dent 24: 247-250, 252-257 (2003).

14. Derdilopuolou FV, Nonhoff J, Neumann K, Kielbassa AM: Microbiological findings after periodontal therapy using curettes, ER:YAG laser, sonic, and ultrasonic scalers. J Clin Periodontol 34: 588-598 (2007).

15. Dorn BR, Leung KL, Progulske-Fox A: Invasion of human oral epithelial cells by Prevotella intermedia. Infect Immun 66: 6054-6057 (1998).

16. Doungudomdacha S, Rawlinson A, Walsh TF, Douglas CW: Effect of non-surgical periodontal treatment on clinical parameters and the numbers of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia and Actinobacillus actinomycetemcomitans at adult periodontitis sites. J Clin Periodontol 28: 437-445 (2001).

17. Drisko CH: Nonsurgical periodontal therapy. Periodontol 2000 25: 77-88 (2001).

18.Drisko CH: Non-surgical pocket therapy: pharmacotherapeutics. Ann Periodontol 1: 491-566 (1996).

19. Eberhard J, Jepsen S, Jervoe-Storm PM, Needleman I, Worthington HV: Full-mouth disinfection for the treatment of adult chronic periodontitis: review. The Cochraine library 4: 1-50 (2008).

20. Eggert FM, McLeod MH, Flowerdew G: Performance of a commercial immunoassay for detection and differentiation of periodontal marker bacteria: analysis of immunochemical performance with clinical samples, J Periodontol 72: 1201-1209 (2001).

21. Eick S, Straube A, Guentsch A, Pfister W, Jentsch H: Comparison of real-time polymerase chain reaction and DNA-strip technology in microbial evaluation of periodontitis treatment. Diagn. Microbial. Infect. Disease 69: 12-20 (2011).

22. Espy MJ: Real-Time PCR in Clinical Microbiology: Applications for Routine Laboratory Testing. J Clin Microbiol 19: 165-256 (2006).

23. Etienne D: Locally delivered antimicrobials for the treatment of chronic periodontitis. Oral Dis 9: 45-50 (2003).

24. Ezzo PJ, Cutler CW: Microorganisms as risk indicators for periodontal disease. Periodontol 2000 32: 24-35 (2003).

25. Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KP, Brissette C: Virulence factors of Actinobacillus actinomycetemcomitans. Periodontol 2000 20: 136-167 (1999).

26. Gersdorf H, Meissner A, Pelz K, Krekeler G, Gobel UB: Identification of Bacteroides forsythus in subgingival plaque from patients with advanced periodontitis. J Clin Microbiol 31: 941-946 (1993).

27. Gomes SC, Piccinin FB, Susin C, Oppermann RV, Marcantonio RA: Effect of supragingival plaque control in smokers and never-smokers: 6-month evaluation of patients with periodontitis. J Clin Periodontol 78: 1515-1521 (2007).

28. Goodson JM: Antimicrobial strategies for treatment of periodontal diseases. Periodontol 2000 5: 142-168 (1994).

29. Goodson JM: Gingival crevice fluid flow. Periodontol 2000 31: 43-54 (2003).

30. Goodson JM, Gunsolley JC, Grossi SG, Bland PS, Otomo-Corgel J, Doherty F, Comiskey J: Minocycline HCl microspheres reduce red-complex bacteria in periodontal disease therapy. J Clin Periodontol 78: 1568-1579 (2007).

31. Gopinath V, T Ramakrishnan, Pamela Emmadi, N Ambalavanan, Biju Mammen, Vijayalakshmi: Effect of a controlled release device containing minocycline microspheres on the treatment of chronic periodontitis: A comparative study. Journal of Indian Society of Periodontol 13: 79-84 (2009).

32. Greenstein G: Nonsurgical periodontal therapy in 2000: a liturature review. JADA 131: 1580-1592 (2000).

33. Greiner D: Characterization of trypsin-like activity of Bacteroides forsythus. Microbiol 141: 921-926 (1995).

34. Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS: Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planing. J Clin Periodontol 24: 767-776 (1997).

35. Haffajee AD, Socransky SS: Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. Periodontol 2000 5: 78-111 (1994).

36. Hanes PJ, Purvis JP: Local anti-infective therapy: pharmacological agents: a systematic review, Ann Periodontol 8: 79-98 (2003).

37. He L, Geng S, Cao C: The efficacy of the chlorhexidin chip following scaling and root planing (SRP) and compared to SRP alone. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi 36: 443-445 (2001).

38. Heasman PA, McCracken GI, Steen N: Supportive periodontal care: the effect of periodic subgingival debridement compared with supragingival prophylaxis with respect to clinical outcomes. J Clin Periodontol 29: 163-172 (2002).

39.Henderson RJ, Boyens JV, Holborow DW, Pack AR: Scaling and root-planing treatment with adjunctive subgingival minocycline. A clinical pilot study over six months, of sites adjacent to and remote from the antibiotic application. J Int Acad Periodontol 4: 77-87 (2002).

40. Hirose K, Isogai E, Ueda I: Porphyromonas gingivalis fimbriae induce adhesion of monocytic cell line U937 to endothelial cells. Microbiol Immunol 44: 17-22 (2000).

41. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA: Virulence factors of Porphyromonas gingivalis. Periodontol 2000 20: 168-238 (1999).

42. Hung HC, Douglass C W: Meta-analysis of the effect of scaling and root planing, surgical treatment and antibiotic therapies on periodontal probing depth and attachment loss. J Clin Periodontol 29: 975-986 (2002).

43. Ishihara K, Kuramitsu HK, Miura T, Okuda K: Dentilisin activity affects the organization of the outer sheath of Treponema denticola. J Bacteriol 180: 3837-3844 (1998).

44. Ishikawa I, Baehni P: Nonsurgical periodontal therapy--where do we stand now? Periodontol 2000 36: 9-13 (2004).

45. Kho P, Smales FC, Hardie JM: The effect of supragingival plaque control on the subgingival microflora, J Clin Periodontol 12: 676-86 (1985).

46. Kömerik N, Nakanishi H, MacRobert AJ, Henderson B, Speight P, Wilson M: In vivo killing of Porphyromonas gingivalis by toluidine blue-mediated photosensitization in an animal model. Antimicrob Agents Chemother 47: 932-940 (2003).

47. Korostoff J, Wang JF, Kieba I, Miller M, Shenker BJ, Lally ET: Actinobacillus actinomycetemcomitans leukotoxin induces apoptosis in HL-60 cells. Infect Immun 66: 4474-4483 (1998).

48. Lang NP, Nyman S, Senn C, Joss A: Bleeding on probing as it relates to probing pressure and gingival health, J Clin Periodontol 18: 257-261 (1991).

49. Lange F: Reaktion von nicht dentalen Fibroblasten auf Kontakt mit exponierter Schmelzmatrix. Med Dissertation, Universität Ulm (2005).

50. Loesche WJ, Lopatin DE, Stoll J, van Poperin N, Hujoel PP: Comparison of various detection methods for periodontopathic bacteria: can culture be considered the primary reference standard? J Clin Microbiol 30: 418-426 (1992).

51. Lowenguth RA, Greenstein G: Clinical and microbiological response to nonsurgical mechanical periodontal therapy. Periodontol 2000 9: 14-22 (1995).

52. Marsh PD: Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. J Clin Periodontol 32: 7-15 (2005).

53. Matevski D, Weersink R, Tenenbaum H C, Wilson B, Ellen R P, Lépine G: Lethal photosensitization of periodontal pathogens by a red-filtered Xenon lamp in vitro. J Periodontal Res 38: 428-435 (2003).

54. Mathers DA, Leung W., Fenno JC, Hong Y, McBride BC: The major surface protein complex of Treponema denticola depolarizes and induces ion channels in HeLa cell membranes. Infect Immun 64: 2904-2910 (1996).

55. Meyer DH, Fives-Taylor PM: Characteristics of adherence of Actinobacillus actinomycetemcomitans to epithelial cells. Infect Immun 62: 928-935 (1994).

56. Mikx FH: Environmental effects on the growth and proteolysis of Treponema denticola ATCC 33520. Oral Microbiol Immunol 12: 249-253 (1997).

57. Molander A, Lundquist P, Papapanou PN, Dahlén G, Reit C: A protocol for polymerase chain reaction detection of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium from the root canal. Int Endod J 35: 1-6 (2002).

58. Mombelli A: Clinical parameters: biological validity and clinical utility. Periodontol 2000 39: 30-39 (2005).

59. Nikkari S: Broad-Range Bacterial Detection and the Analysis of Unexplained Death and Critical Illness. Emerg Infect Dis 8: 188-194 (2002).

60. Ogawa T, Uccida H, Hamada S: Porphyromonas gingivalis fimbriae and their synthetic peptides induce proinflammatory cytokines in human peripheral blood monocyte cultures. FEMS Microbiol Lett 15, 116(2): 237-242 (1994).

61. Paolantonio M, D'Ercole S, Pilloni A, D'Archivio D, Lisanti L, Graziani F, Femminella B, Sammartino G, Perillo L, Tetè S, Perfetti G, Spoto G, Piccolomini R, Perinetti G: Clinical, microbiologic and biochemical effects of subgingival administration of a xanthan-based chlorhexidin gel in the treatment of periodontitis: a randomized multicenter trial. J Periodontol 80: 1479-1492 (2009).

62. Papapanou PN: Periodontal diseases: epidemiology. Ann Periodontol 1: 1-36 (1996).

63. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE: Bacterial diversity in human subgingival plaque. J Bacteriol 183: 3770-3783 (2001).

64. Petti CA: Detection and identification of microorganisms by gene amplification and sequencing. Clin Infect Dis 44: 1108-1114 (2007).

65. Pfitzner A, Sigusch BW, Albrecht V, Glockmann E: Killing of periodontopathogenic bacteria by photodynamic therapy. J Periodontol 75: 1343-1349 (2004).

66. Preshaw PM, Heasman L, Stacey F, Steen N, McCracken GI, Heasman PA: The effect of quitting smoking on chronic periodontitis. J Clin Periodontol 32: 869-879 (2005).

67. Rams TE, Slots J: Local delivery of antimicrobial agents in the periodontal pocket. Periodontol 2000 10: 139-159 (1996).

68. Riggio MP, Lennon A, Roy KM: Detection of Prevotella intermedia in subgingival plaque of adult periodontitis patients by polymerase chain reaction. J Periodontal 33: 369-376 (1998).

69. Rôças IN, Alves FRF, Santos AL, Rosado AS, Siqueira JF Jr: Apical root canal microbiota as determined by reverse-capture checkerboard analysis of cryogenically ground root samples from teeth with apical periodontitis. *J Endod* 36: 1617-1621 (2010).

70. Rosen G, Naor R, Kutner S, Sela MN: Characterization of fibrinolytic activities of Treponema denticola. Infect Immun 62: 1749-1754 (1994).

71. Saito D: Real-time polymerase chain reaction quantification of Porphyromonas gingivalis and Tannerella forsythia in primary endodontic infections. J Endod 35: 1518-1524 (2009).

72. Salvi GE, Mombelli A, Rutar A Suvan J, Garrett S, Lang NP: Local antimicrobial therapy after initial periodontal treatment: A randomized clinical trial comparing three biodegradable sustained release polymers. J Clin Periodontol 29: 540-550 (2002).

73. Salvi GE, Lawrence HP, Offenbacher S, Beck JD: Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. Periodontol 2000 14: 173-201 (1997).

74. Sela MN: Role of Treponema denticola in periodontal diseases. Crit Rev Oral Biol Med 12: 399-413 (2001).

75. Slots J, Jorgensen MG: Effective, safe, practical and affordable periodontal antimicrobial therapy: where are we going, and are we there yet? Rewiew. Periodontol 2000 28: 298-312 (2002).

76. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr: Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol 25: 134-44 (1998).

77. Sojar HT, Sharma A, Genco RJ: Porphyromonas gingivalis fimbriae bind to cytokeratin of epithelial cells. Infect Immun 70: 96-101 (2002).

78. Struch F, Dau M, Schwahn C, Biffar R, Kocher T, Meisel P: Interleukin-1 gene polymorphism, diabetes, and periodontitis: results from the Study of Health in Pomerania (SHIP), J Periodontol 79: 501-507 (2008).

79. Takada H, Mihara J, Morisaki I, Hamada S: Induction of interleukin-1 and -6 in human gingival fibroblast cultures stimulated with Bacteroides lipopolysaccharides. Infect Immun 59: 295-301 (1991).

80. Tan KS, Song KP, Ong G: Bacteroides forsythus prtH genotype in periodontitis patients: occurrence and association with periodontal disease. J Periodontal Res 36: 398-403 (2001).

81. Tang YW, Procop GW, Persing DH: Molecular diagnostics of infectious diseases. Clin Chem 43: 2021-2038 (1997).

82. Tomás I, Cousido MC, García-Caballero L, Rubido S, Limeres J, Diz P: Substantivity of a single chlorhexidine mouthwash on salivary flora: influence of intrinsic and extrinsic factors. J Dent 38: 541-546 (2010).

83. Tonetti MS, Pini-Prato G, Cortellini P: Principles and clinical applications of periodontal controlled drug delivery with tetracycline fibers. Int J Periodontics Restorative Dent 14: 421-435 (1994).

84. Tunkel J, Heinecke A, Flemmig TF: A systematic review of efficacy of machine-driven andmanual subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis, J Clin Periodontol 29: 72–81 (2002).

85. Umeda M, Takeuchi Y, Noguchi K, Huang Y, Koshy G, Ishikawa I: Effects of nonsurgical periodontal therapy on the microbiota. Periodontol 2000 36: 98-120 (2004).

86. Van der Weijden GA, Timmermann MF: A systemic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. J Clin Periodontol 29: 55-71 (2002).

87. Van Winkelhoff AJ, de Graaff J: Microbiology in the management of destructive periodontal disease, J Clin Periodontol 18: 406-410 (1991).

88. Van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U: Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. J Clin Periodontol 29: 1023-1028 (2002).

89. Van Dyke TE, Offenbacher S, Braswell L, Lessem J: Enhancing the value of scaling and root-planing: Arestin clinical trial results. J Int Acad Periodontol 4: 72-76 (2002).

90. Vartoukian SR, Palmer RM, Wilson RF: Evaluation of a new peridontal probe tip design. J Clin Periodontol 31: 918-925 (2004).

91. Walker C, Thomas J, Nangó S, Lennon J, Wetzel J, Powala C: Long-term treatment with subantimicrobial dose doxycycline exerts no antibacterial effect on

the subgingival microflora associated with adult periodontitis. J Periodontol 79: 1465-1471 (2000).

92. Williams RC, Paquette DW, Offenbacher S, Adams DF, Armitage GC, Bray K, Caton J, Cochran DL, Drisko CH, Fiorellini JP, Giannobile WV, Grossi S, Guerrero DM, Johnson GK, Lamster IB, Magnusson I, Oringer RJ, Persson GR, Van Dyke TE, Wolff LF, Santucci EA, Rodda BE, Lessem J: Treatment of periodontitis by local administration of minocycline microspheres: a controlled trial. J Periodontol 72: 1535-1544 (2001).

93. Xajigeorgiou C, Sakellari D, Slini T, Baka A, Konstantinidis A: Clinical and microbiological effects of different antimicrobials on generalized aggressive periodontitis. J Clin Periodontol 33: 254-264 (2006).

94. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS: Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. J Clin Periodontol 27: 648-657 (2000).

95. Yano-Higuchi K, Takamatsu N, He T, Umeda M, Ishikawa I: Prevalence of Bacteroides forsythus, Porphyromonas gingivalis and Actinobacillus actinomycetemcomitans in subgingival microflora of Japanese patients with adult and rapidly progressive periodontitis. J Clin Periodontol 27: 597-602 (2000).

96. Zambon JJ: Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. J Clin Periodontol 12: 1-20 (1985).

97. Zehnder M, Guggenheim B: The mysterious appearance of enterococci in filled root canals. Int Endod J 42: 277-287 (2009).

# 7. Dank

Mein Dank gilt Allen die mich bei dieser Arbeit unterstützt und damit zum Gelingen beigetragen haben.

Als erstes möchte ich mich bei Herrn **Prof. Dr. Bernd Haller**, dem Ärztlichen Direktor der Abteilung Zahnerhaltung und Parodontologie, der mir die Arbeit in seiner Abteilung ermöglicht hat, bedanken.

Ich danke meinem Doktorvater **Prof. Dr. Axel Spahr** für das spannende Thema und die interessante Aufgabenstellung aber auch für das ausführliche Feedback, dass er während etlicher Flüge von und nach Australien erstellt hat.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem sehr guten Freund und „Blindmesser“ **Dr. Tobias Günter**, der zahlreiche Stunden und Abende mit der Befunderhebung verbrachte.

Herrn **Prof. Dr. Dr. Stephan Haase** danke ich für die Zweitkorrektur.

Herrn **Dr. Dreyhaupt** danke ich für die statistische Auswertung, was mir viele Rechenstunden ersparte.

Herrn **Dr. Meisohle** und **Frau Ehrlich** danke ich für die mikrobiologische Auswertung.

Mein weiterer Dank gilt meinen **Patienten** für ihr großes Engagement und ihre Pünktlichkeit während zahlreicher Sitzungen.

Mein größter Dank gilt meinen **Eltern**, die in jeglicher Hinsicht den Grundstein für meinen persönlichen und beruflichen Werdegang gelegt haben. Danke für viele Jahre der unermüdlichen moralischen Unterstützung über die gesamte Studienzeit hinweg.

Mein letzter Dank gilt meiner Freundin **Tanja Haag**, ohne deren Antreiben die Doktorarbeit sicherlich noch nicht fertiggestellt wäre. Sie war in schweren Zeiten für mich da und hat mich sowohl während der harten Studienzeit als auch während der Examensvorbereitung mit voller Kraft unterstützt. Für diese Unterstützung und für die unendliche Geduld möchte ich mich herzlichst bedanken. Ich liebe Dich; Danke…!!!

# 8. Lebenslauf

Lebenslauf aus Gründen des Datenschutz entfernt.