

Real-Time PCR bei der Analyse parodontopathogener Markerkeime

- Die Methodik der RT PCR (meridol Test) erlaubt eine exakte Quantifizierung der im Untersuchungsmaterial vorhandenen DNA bzw. Erreger nur dann, wenn ein definiertes Probevolumen eingesetzt wird. Dies ist bei mittels Papierspitzen gewonnenen Proben zum Nachweis subgingivaler parodontopathogener Bakterien nicht möglich, da das von diesen aufgenommene Volumen von unterschiedlichen Parametern, wie Verweildauer der Papierspitze im Sulkus, Menge und Viskosität der Sulkusflüssigkeit, Anteil von Pus oder Blut im Exsudat etc. abhängig ist. Die Keimzahl der einzelnen Bakterien kann also auch hier nur annäherungsweise bestimmt werden.
- Darüber hinaus ist eine exakte Quantifizierung der Keime für die Therapie der Parodontitis nicht von Bedeutung, da es therapeutisch keinen Unterschied macht, ob ein Keim in einer Konzentration von $5,43 \times 10^5$ oder 10^6 vorhanden ist. Wichtig ist lediglich der Nachweis über bzw. unter einer therapeutisch relevanten Schwellenkonzentration sowie der Verlauf nach Therapie, da dieser ausschlaggebend für die Entscheidung ist, ob eine mechanische Therapie ausreichend ist oder ob eine antibiotisch unterstützte Begleittherapie notwendig ist. Zur Beurteilung des Therapieerfolges, der sich als Keimreduktion oder -elimination darstellt, ist eine semi-quantitative Analyse völlig ausreichend. Die RT PCR zur Analyse parodontopathogener Markerkeime ist daher „oversized“ und treibt die Kosten für eine mikrobiologischen Markerkeimbestimmung unnötig in die Höhe.
- Die orale Mikroflora setzt sich aus einer Vielzahl z.T. nahe verwandter Bakterien-spezies zusammen, die trotz ihrer phylogenetischen Ähnlichkeit grundsätzlich unterschiedliche Pathogenitäten und Kausalitäten in der Ätiologie der Parodontitis aufweisen. Aus diesem Grunde ist es von großer Bedeutung, ein Testsystem mit maximaler Spezifität für die Analyse der subgingivalen Flora einzusetzen. Der micro-IDent[®]-Test zeichnet sich durch zwei „Check-points“ aus, indem eine erste Selektion durch die selektive Amplifikation mit hochspezifischen Primern in der PCR-Reaktion und eine zweite durch die spezifische Bindung der Amplifikate an homologe Capture-probes während der Hybridisierung erfolgt. Ein Abgleich mit dem am Forsyth-Institut durchgeführten „Checker-Board-Assay“ bescheinigt dem micro-IDent[®]-System so auch eine optimale Spezifität und Praktikabilität.
- Die Bestimmung der Gesamtkeimzahl und die darauf basierende Berechnung der prozentualen Anteile einzelner Bakterien ist für die Therapie nicht von Bedeutung. Da der subgingivale Biofilm kein statisches Gebilde darstellt, sondern ständiger Fluktuation und interner Umstrukturierung unterworfen ist, kann auch eine aus dem Sulkus entnommene Probe lediglich eine Momentaufnahme bzw. die zum Zeitpunkt der Probenentnahme X am Insertionspunkt der Papierspitze Y existierende Keimverteilung darstellen. Eine Poolprobe, welche einen Durchschnittswert der im gesamten Parodont anwesenden PA-Keime repräsentiert, ist daher als Entscheidungshilfe für das weitere therapeutische Vorgehen optimal.