

Alexander Macheleidt

Dr. med. dent.

Klonale Heterogenität von *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-Isolaten junger Erwachsener mit und ohne Parodontitis

Geboren am 31.07.1968 in München

Reifeprüfung am 27.05.1987 in Langenhagen

Studiengang der Fachrichtung Zahnmedizin vom WS 1989/1990 bis SS 1995

Physikum am 31.03.1992 an der Universität Bonn

Klinisches Studium in Bonn

Staatsexamen am 13.06.1995 an der Universität Bonn

Promotionsfach: Mund-Zahn-Kieferheilkunde

Doktorvater: Herr Priv.-Doz. Dr. med. dent. H.-P. Müller

Die Zielsetzung der Arbeit war, mit verschiedenen Polymerase-Kettenreaktionen eine biochemisch identifizierte Stammsammlung von *A. actinomycetemcomitans* gentechnisch zu bestätigen, genomische Polymorphismen innerhalb dieser Sammlung zu ermitteln und die entstehenden Gruppen auf Assoziationen zum parodontalen Zustand der Carrier zu untersuchen.

Die Stämme von *A. actinomycetemcomitans* wurden in einem vorausgegangenen Teil des Gesamtprojekts gewonnen. Dabei wurden 201 allgemeinmedizinisch gesunde 18-25jährige Rekruten der Bundeswehr an zwei Standorten untersucht. Neben der Erhebung von klinischen Parametern wurden mehrere Schleimhautabstriche, eine Speichelprobe und subgingivale Plaque gewonnen. Bei allen Proben wurde auf selektiven Nährmedien und biochemisch der gesuchte Erreger ermittelt. Die Reinisolate von 51 der Probanden wurden in dieser Studie weiterverarbeitet. Fünfundzwanzig Stämme von *A. actinomycetemcomitans*-positiven Patienten mit Parodontitis dienten als Kontrollgruppe. Weiterhin wurden drei Referenzstämme des Keims als positive Kontrollen bezogen und ebenfalls untersucht.

Bei einer Polymerase-Kettenreaktion mit Spezies-spezifischen Oligonucleotidprimern wurden bei allen 79 Isolaten Abschnitte der 16S rRNA erkannt und amplifiziert. Die anschließende Gelelektrophorese zeigte Amplifikationsprodukte der erwarteten Größe. Ein weiteres Primerpaar amplifizierte

Abschnitte des Leukotoxins *ltxA* und bestätigte somit wiederum die gestellte Speziesdiagnose für alle untersuchten Bakterien.

Besonders leukotoxische Stämme von *A. actinomycetemcomitans* sollten durch Amplifikation einer Sequenz der Promoter Region im Leukotoxin identifiziert werden. Für alle Isolate wurde wiederum die Speziesdiagnose erhärtet. Der bei einem 24jährigen schwarzen ghanaischen Patienten mit lokalisierter juveniler Parodontitis gewonnene Stamm wies den als kennzeichnend geltenden Gendefekt von 530 Basenpaaren in der Promoter Region auf.

Die AP-PCR mit drei zufällig ausgewählten Dekamer-Oligonucleotiden ergab für die 79 untersuchten Isolate 19 verschiedene Genotypen. Der am häufigsten vertretene Typ repräsentierte mehr als die Hälfte der *A. actinomycetemcomitans*-Stämme, zwei andere zusammen ein weiteres Fünftel. Viele Genotypen waren nur durch ein Isolat definiert, dies galt auch für den Keim mit der 530 bp-Deletion. Innerhalb der häufigsten Genotypen war als Trend eine geringe Assoziation zum parodontalen Zustand der Carrier erkennbar.

Die Gelelektrophoresemuster dieser AP-PCR Genotypen wurden auf Ähnlichkeiten untersucht, die Übereinstimmungen einer hierarchischen Clusteranalyse mit „complete linkage sort“ unterzogen. Die entstehenden globulären Cluster sollten wiederum Assoziationen zum Erkrankungszustand aufzeigen und eine Abschätzung der genetischen Ähnlichkeit innerhalb einer Gruppe ermöglichen. Bei einer genetischen Distanz von $<0,2$ entstanden fünf solcher Cluster, von denen drei die Isolate sowohl von Gesunden als auch von parodontal Erkrankten beinhalteten. Eine Gruppe wurde ausschließlich von Isolaten Gesunder, die andere nur von Isolaten von Parodontalpatienten gebildet. Die Nullhypothese, daß die Wahrscheinlichkeit eines Auftretens bestimmter Klone von *A. actinomycetemcomitans* unabhängig vom parodontalen Zustand des Carriers ist, wurde mit $\chi^2(4)=12,7$, $p=0,01$ verworfen. Das gesamte Kollektiv war genetisch recht homogen und sehr ähnlich.

Obwohl diesbezügliche Trends in Richtung auf ein häufigeres Auftreten von bestimmten Klonen in parodontal erkrankten Populationen identifiziert werden konnten, ist es dennoch ziemlich wahrscheinlich, daß das Bakterium in den meisten Fällen nicht als exogener Auslöser der Erkrankung, sondern als opportunistischer Keim fungiert, der durch andere Faktoren induzierte Veränderungen des ökologischen Gleichgewichts ausnutzt. Vermutlich agiert der Erreger größtenteils als Kommensal. Beobachtungen der vorliegenden Studie unterstützen die Hypothese, daß hochtoxische Klone bei afrikanisch-stämmigen Personen als exogenes Pathogen möglicherweise eine Sonderform der lokalisierten juvenilen Parodontitis auslösen können.