



Gesellschaft für biologisch-medizinische Diagnostik und Dienstleistung mbH

* Hoheneichstraße 18

52134 Herzogenrath

(02407 568-1242

Fax: 02407 568-1249

E-mail: info@lcl-biokey.de

Homepage: www.lcl-biokey.de

LCL^ò Karies-Test

Früherkennung und Verlaufskontrolle der Karies mittels
Nachweis der Markerbakterien über Gensonden und PCR
sowie Bestimmung der **Pufferkapazität** im Speichel

Informationsbroschüre für Zahnärzte, Version 1.2

1) Welche Bakterien verursachen die Karies?

Trotz rückläufiger Inzidenz in den Industrieländern bleibt der Wunsch nach Früherkennung eines erhöhten individuellen Kariesrisikos, insbesondere im Kindesalter, bestehen.

Ursächlich für die Karies-Initiation sind Milchsäurebakterien aus der Gruppe der **Mutans-Streptokokken** (Arten: *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus* sowie *S. rattus*). Mutans-Streptokokken spalten den „Zucker“ (Saccharose, Sucrose: Dimer aus Fructose und Glucose) mit Hilfe des Enzyms **Glucosyltransferase** und verstoffwechseln den Fructose-Anteil zu aggressiver **Milchsäure** (pK = 3,08). Sie nutzen ferner den Glucoseanteil zum Aufbau von schwerlöslichem Dextran (in dieser besonders adhärenenten Form auch als **Mutan** bezeichnet), das einen Hauptbestandteil der Plaque bildet. Die Glucosyltransferase der Mutans-Streptokokken kann man daher auch als die hauptsächliche Säure- und Plaque-Fabrik der Mundhöhle bezeichnen. Dieses Enzym zu hemmen ist das Ziel von Impfstoffentwicklungen zur Prävention der Karies.

Auch diagnostisch sollte man diesem Haupt-Virulenzfaktor der Mutans-Streptokokken besondere Aufmerksamkeit schenken, was wir mit der Entwicklung des **LCL[®]Karies-Testsystems** realisiert haben. Weiterhin wird mit unserem Testsystem der Tatsache Rechnung getragen, dass nicht der sezernierte Speichel, sondern die Zahnoberfläche selbst, den primären Standort der Karies-Erreger darstellt [Übersichtsartikel:1-11].

Laktobazillen sind weitere kariogene Milchsäurebakterien, die jedoch immer zur normalen Standortflora der Mundhöhle gehören. Ihre Zellzahl variiert mit dem Zuckerkonsum des Patienten, so dass eine kritische anamnestische Erhebung über den Zuckerkonsum die aufwendige Laktobazillen-Diagnostik nahezu ersetzen kann.

Das LCL-Kariestestsystem konzentriert sich auf alle Arten von Mutans-Streptokokken mit einem 2-Phasensystem für optimale Sicherheit.

2) Wie können die Karieserreger spezifisch nachgewiesen werden?

Die enorme Komplexität des Speichels, wie auch der adhärenenten Plaque, bestehend aus Polysacchariden, Glykopeptiden, menschlichen Zellen und einer enormen Vielzahl von Bakterienarten, erfordert modernste Techniken zum Nachweis einzelner, besonders kariogener Streptokokken. Wir haben für die möglichst selektive und sensitive Erfassung der Mutans-Streptokokken daher ein **2-Phasensystem** entwickelt.

Hierbei werden zwei unterschiedliche Verfahren nacheinander eingesetzt: **Gensonden** zur Erfassung **erhöhter oder hoher Risiken** und die **Polymerase-Kettenreaktion** um **niedrige Risiken** abzusichern.

Als Untersuchungs-Materialien dienen ein **Watteröllchen** (Aufnahme einer Speichelprobe mit Abrieb allgemeiner und kariogener Beläge) und ein **gezielter Abstrich** (Probenentnahme an auffälligen Schmelzbereichen).

1. Phase: In beiden Testmaterialien erfolgt die **selektive Detektion der Markerbakterien mittels Bindung von Gensonden** (Hybridisierung). Dazu wird die RNA-Fraktion des Materials in unserem Labor isoliert und auf einer Trägerfolie immobilisiert. Anschließend werden Bakterienart-spezifische Gensonden, bestehend aus z.B. 18 Bausteinen (Basen), zu dem Ansatz gegeben. Ein Material ist danach **positiv**, wenn eine Hybridisierung erfolgen kann, wenn also die Basenreihenfolge der Sonde (Sequenz) eine 100%ige Komplementarität zu RNA-Sequenzen der kariogenen Bakterien im Material aufweist. Dies ist durchaus zu vergleichen mit einer Tür, deren 18 Schlösser nur dann geöffnet werden können, wenn alle vorhandenen Schlüssel passen (biokey®). Die LCL-Sonden wurden in Ihrer Sequenz sowohl durch Computerrecherche (Vergleich zur entsprechenden Sequenz von 9.000 Bakterienstämmen), als auch durch Laboruntersuchungen, durchgeführt am Nationalen Referenzzentrum für Streptokokken, mit Referenzbakterien und klinischen Materialien optimiert.

Die LCL⁰-Sonden werden ständig aktualisiert, da sich das Wissen in der Kariologie weiterentwickelt. Sie können so sicher sein, dass die Patientenmaterialien konform zum aktuellen Stand der Kariesforschung analysiert werden.

2. Phase: Um niedrige Risiken nochmals abzusichern wird mit der hochsensitiven molekulargenetischen Methode der **Polymerase-Kettenreaktion (PCR)** die **Konzentration des Glucosyltransferase-Gens** in beiden Materialien bestimmt.

Ergänzend wird –ohne Aufpreis- auch die **Pufferkapazität in der Speichelprobe** des Patienten in unserem Labor (titrimetrisch) bestimmt. Denn auch die Ermittlung der Empfindlichkeit des Patienten gegenüber bakteriellen Säuren ist notwendig um einen aussagekräftigen Gesamtbefund zu erstellen.

So kann das Kariesrisiko der Patienten zweifelsfrei und sicher erfasst werden.

3) Für welche Patienten ist eine Untersuchung der Karies-Leitkeime sinnvoll?

Die Untersuchung der Karies-Markerkeime ist nach dem heutigen Erkenntnisstand für das folgende Patientenklientel besonders sinnvoll:

- Bei **(Klein-)Kindern** zur Abschätzung a) des individuellen Kariogenese-Risikos, b) der Notwendigkeit von besonderer Zahnpflege, c) der Notwendigkeit zur Einschränkung des Zuckerkonsums oder d) der Notwendigkeit von Zahn-Zusatzversicherungen.
- Bei **Schwangeren** und **Müttern von (Klein-)Kindern**, um ihr eigenes Risiko, aber auch das Übertragungspotenzial auf ihr Kind, abzuschätzen.
- Bei **KFO-Patienten**
- Zur **Behandlungskontrolle** nach restaurativen Maßnahmen
- Für Patienten mit hohem Anspruch im Bereich der **Vorsorge und Sicherheit** und bei denen KEINE Läsionen klinisch festgestellt werden konnten.

Die beiliegenden **orange-farbenen Broschüren** unterstützen Sie bei der Information Ihrer Patienten.

4) Wie wird der LCL^ÖKaries-Test in der zahnärztlichen Praxis durchgeführt? (Kurzanleitung auf Seite 8 dieser Broschüre)

Vorbereitungen: Informieren Sie den Patienten über die Testmethodik und die Abrechnungsmodalitäten. Berücksichtigen Sie einen Abstand von mindestens zwei Stunden zwischen der letzten Mahlzeit und der Probenentnahme. Sie können den Patienten auch anleiten die Speichelentnahme unmittelbar nach der Nachtruhe zu Hause durchzuführen. Der gezielte Abstrich muss dagegen in der Praxis vorgenommen werden.

Probenentnahme: Das Entnahmegefäß besteht aus zwei Kammern, der Abstrichkammer (gezielter Abstrich im Risiko-Schmelzbereich) und der Röllchen-Kammer (Speichelprobe mit Abrieb allgemeiner Beläge).

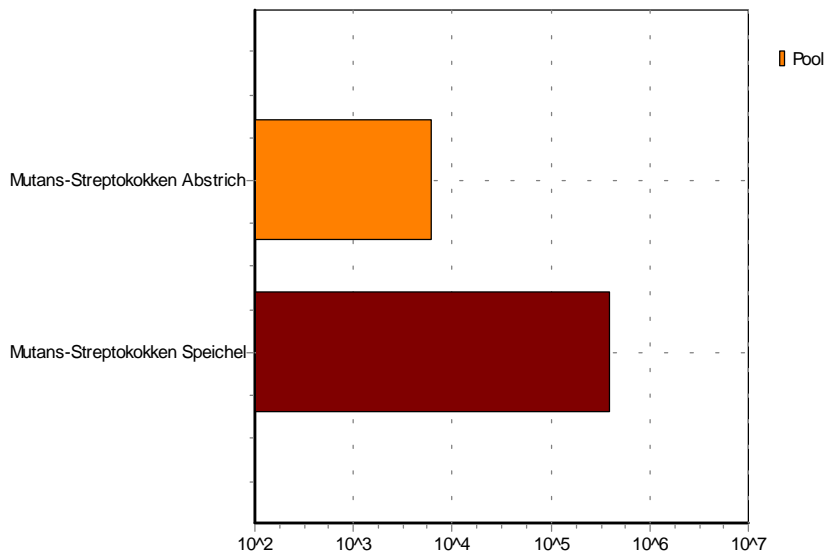
Öffnen Sie die große **Abstrichkammer**. Zum Vorschein kommt ein kleiner steriler Entnahmepinsel mit dem Sie in Risikobereichen (z. B. Fissuren, Kreideflecken, fragliche Läsionen und Verfärbungen) einen gezielten Abstrich vornehmen. Stecken Sie den Pinsel an der Halterung zurück in das Entnahmegefäß. Öffnen Sie anschließend die **Röllchen-Kammer** und legen Sie dem Patienten mittels einer sterilen Pinzette das sterile Watteröllchen auf die Zunge. Lassen Sie den Patienten das Röllchen **60 Sekunden** kauen und mit Speichel durchtränken. Überführen Sie das Röllchen zurück ins Gefäß.

Probenkennzeichnung und Versand: Entscheidend für optimale Befunde ist die **unverwechselbare Kennzeichnung Ihrer Proben**. Dem Probenentnahmekit sind Aufkleberpaare (A und B) beigelegt. Kennzeichnen Sie das Probengefäß nach Materialentnahme mit dem **Aufkleber A** und kleben Sie den korrespondierenden **Aufkleber B** in das betreffende Fenster des grünen Befunderhebungsbogens.

Bitte nehmen Sie sich die Zeit die notwendigen Daten auf dem Befunderhebungsbogen einzutragen. Wir nehmen uns Zeit für eine individuelle Ergebniserstellung und Befundinterpretation. Schicken Sie die Probengefäße + korrespondierende Befunderhebungsbögen in einem **Polster- bzw. Kartonumschlag mit 1,45 €** frankiert an **LCL biokey, Hoheneichstraße 18, 52134 Herzogenrath**. Sie erhalten die individuellen **Ergebnisse + Therapievorschlage** innerhalb von 10 Werktagen.

5) Wie sieht ein typisches Ergebnis aus?

Jeder Befund wird **individuell** erstellt, wobei vollständige Angaben auf dem Befunderhebungsbogen für einen aussagekräftigen Befund entscheidend sind. Die Ergebnisse enthalten Therapieempfehlungen und sollen den Zahnarzt im Patientengespräch unterstützen.



Gesamtbeurteilung:

Hohes Kariesrisiko:

Achtung: Bitte die Mundhygiene überprüfen; *anschließend folgen individuell abgestimmte Empfehlungen sowie Angaben zur Pufferkapazität des Speichels.*

6) Welche Kosten entstehen für den LCL[®] Karies-Test und welche Abrechnungsempfehlungen gibt es im Rahmen der notwendigen Probenentnahme?

Unsere Leistung umfasst: 1) Nachweis des genetischen Fingerabdrucks der vier bedeutsamsten Karies-Erreger (*Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus* sowie *S. rattus*) aus Speichel und Zahnabstrich mittels Gensonden-Hybridisierung, 2) Ggf. (zur Absicherung niedriger Risiken) Nachweis der Mutans-Glucosyltransferase mittels Polymerase-Kettenreaktion, 3) Bestimmung der Speichel-Pufferkapazität

Wir berechnen hierfür einen **Nettopreis von 28,01 €**. Diesen Betrag stellen wir dem behandelnden Zahnarzt analog der Parodontitis-Leitkeimdiagnostik (LCL[®] Parodontitis-Testsystem) gemäß den Empfehlungen des IWW als „**Materialkosten-DNS-Sondentest**“ in Rechnung. Die Rechnung wird im Allgemeinen **an den Patienten** mit der Zahnarztrechnung gemäß GOZ §3 bzw. §4 (Absatz 3) **weitergeleitet**. Für die Abrechnung bei **Kassenpatienten** ist eine **private Behandlungsvereinbarung** möglich.

Für die genaue Leistungsbeschreibung verweisen wir auf die beiliegende detaillierte Empfehlung zur Abrechnung des Markerkeimtest beim gesetzlich bzw. privat versicherten Patienten.

Bei Bedarf kann unser Abrechnungsempfehlung auch auf unserer Homepage www.lcl-biokey.de im Bereich Service heruntergeladen werden.

7) Wie erfolgt die Qualitätssicherung des LCL[®] Karies-Tests?

Das Testsystem wird ständig durch Positiv- und Negativkontrollen in Spezifität und Sensitivität gesichert. Zudem wird die LCL biokey GmbH von Wissenschaftlern aus den Bereichen Medizin, Zahnmedizin und Molekularbiologie beraten, die selbst in aktuellen Publikationen zu der Erforschung der Oralen Mikrobiologie und Diagnostik auf internationalem Niveau beigetragen haben. Das Testverfahren wird zudem ständig an den aktuellen Stand der Wissenschaft adaptiert.

8) Wie erhalte ich neue/weitere Probengefäße bzw. Broschüren?

Schicken Sie einfach ein Fax/Kurzbrief (Formular liegt bei) an unsere Firmenadresse oder rufen Sie kurz an. **Die Bereitstellung der Probengefäße erfolgt in jedem Fall kostenfrei und binnen kürzester Zeit.**

9) Die Vorteile liegen auf der Hand:

- Bestimmung der Karieserreger-Keimzahl und der Speichel-Pufferkapazität im Labor.
- Keine Keimbelastung der zahnärztlichen Praxis.
- Zweijährige Haltbarkeit des Entnahmebestecks
- Bereitstellung des Entnahmebestecks kostenlos, keine Investitionskosten.
- Fachkundige Beratung

10) Welche weitergehende Literatur gibt es für den Praktiker zum neuesten Stand der Kariologie.

Die Literatur zu den mikrobiologischen Hintergründen der Karies-Entstehung ist äußerst umfangreich, hier sollen nur beispielhaft einige neuere Übersichtsarbeiten angeführt werden:

1. **de Soet, J. J. & de Graaff, J. (1998).** Microbiology of carious lesions. *Dent Update* **25**, 319-324.
2. **Featherstone, J. D. (2000).** The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* **131**, 887-899.
3. **Horowitz, H. S. (1998).** Research issues in early childhood caries. *Community Dent Oral Epidemiol* **26**, 67-81.
4. **Jacques, N. (1998).** Molecular biological techniques and their use to study streptococci in dental caries. *Aust Dent J* **43**, 87-98.
5. **Llena-Puy, M. C., Montanana-Llorens, C. & Forner-Navarro, L. (2000).** Cariogenic oral flora and its relation to dental caries. *ASDC J Dent Child* **67**, 42-46, 49.
6. **Marsh, P. D. (1999).** Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. *Dent Clin North Am* **43**, 599-614.
7. **Mattos-Graner, R. O., Smith, D. J., King, W. F. & Mayer, M. P. (2000).** Water-insoluble glucan synthesis by mutans streptococcal strains correlates with caries incidence in 12- to 30-month-old children. *J Dent Res* **79**, 1371-1377.
8. **Powell, L. V. (1998).** Caries risk assessment: relevance to the practitioner. *J Am Dent Assoc* **129**, 349-353.
9. **Rethman, J. (2000).** Trends in preventive care: caries risk assessment and indications for sealants. *J Am Dent Assoc* **131 Suppl**, 8S-12S.
10. **Simmonds, R. S., Tompkins, G. R. & George, R. J. (2000).** Dental caries and the microbial ecology of dental plaque: a review of recent advances. *N Z Dent J* **96**, 44-49.
11. **Tsai, Y. W., Chia, J. S., Shiau, Y. Y., Chou, H. C., Liaw, Y. C. & Lou, K. L. (2000).** Three-dimensional modelling of the catalytic domain of *Streptococcus mutans* glucosyltransferase GtfB. *FEMS Microbiol Lett* **188**, 75-79.

LCL® Karies-Test: Kurzanleitung

Voruntersuchung des Patienten

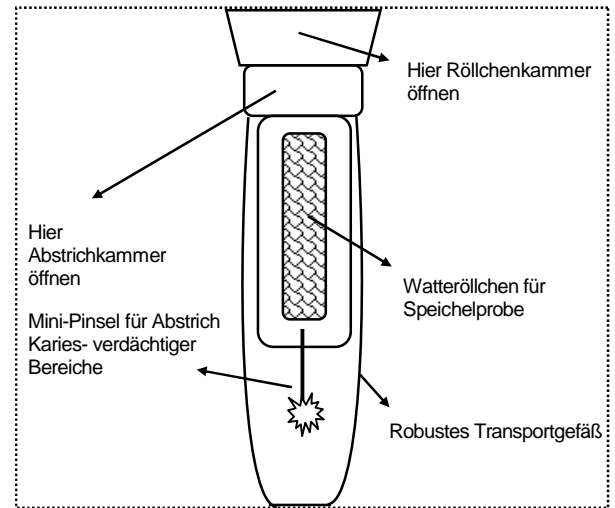
Die Information des Patienten über den Test wird unterstützt durch eine kleine **Patientenbroschüre (orange)**

Der Abstand zwischen Test und der letzten Mahlzeit sollte mindestens 2h betragen

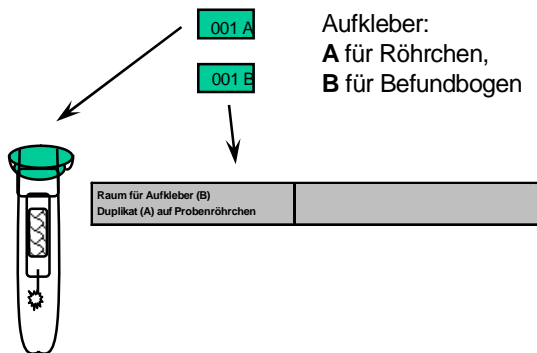
Abstrichregion(en) auswählen: z.B. verdächtige Fissuren, Kreideflecken oder Verfärbungen.

Probenentnahme

- Abstrichkammer öffnen und mit Mini-Pinsel ausgewählte Risikobereiche abstreifen
- Abstrich in Gefäß zurückstecken.
- Röllchenkammer öffnen und Watte-Röllchen mit steriler Pinzette auf die Zunge des Patienten überführen; Patient das Röllchen 60 Sekunden kauen und mit Speichel durchtränken lassen
- Röllchen in Kammer zurückstecken



Probenkennzeichnung



Befunderhebungsbogen (grün) vervollständigen

- Patientendaten
- Anamnese
- Lokalisation der Abstriche eintragen
- Ggf. Besonderheiten angeben

Versand

Probenröhrchen mit Befundbogen in beiliegenden Musterbeutel (oder sonstigen Polsterumschlag) geben und versenden an:

LCL biokey GmbH
Hoheneichstraße 18
52134 Herzogenrath