

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR ZAHNÄRZLICHE PROTHETIK
PROF. DR. G. HANDEL
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG



**Einfluss der Füllkörper von Kompositmaterialien auf die
initiale bakterielle Adhäsion**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Matthias Prudil

2010

AUS DEM LEHRSTUHL
FÜR ZAHNÄRZTLICHE PROTHETIK
PROF. DR. G. HANDEL
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG



**Einfluss der Füllkörper von Kompositmaterialien auf die
initiale bakterielle Adhäsion**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der
Medizinischen Fakultät
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Matthias Prudil

2010

Dekan: Prof. Dr. Bernhard Weber

1. Berichterstatter: PD Dr. Ralf Bürgers

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. Peter Proff

Tag der mündlichen Prüfung: 04.08.2010

Für meine Eltern
Angela und Dr. Harald Prudil

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG	4
2 LITERATURÜBERSICHT	5
2.1 Physiologische Grundlagen	5
2.1.1 Speichel	5
2.1.1.1 Bildung	5
2.1.1.2 Zusammensetzung	6
2.1.1.3 Funktion	6
2.1.2 Pellicel	7
2.1.2.1 Bildung	7
2.1.2.2 Zusammensetzung	8
2.1.2.3 Funktion	9
2.1.3 Bakterielle Adhäsion (Plaquebildung)	10
2.1.3.1 Transport der Mikroorganismen zur Materialoberfläche	11
2.1.3.2 Initiale Adhäsion	12
2.1.3.3 Irreversible Bindung (Sekundäre Adhäsion)	14
2.1.3.4 Kolonisation/Plaquereifung	14
2.2 Physikalisch-chemische Faktoren der bakteriellen Adhäsion	16
2.2.1 Freie Oberflächenenergie (surface free energy, SFE)	16
2.2.2 Oberflächenrauigkeit (R_A)	16
2.2.3 Zeta-Potential	17
2.2.4 Hydrophobie	17
2.3 <i>Streptococcus mutans</i> und <i>Streptococcus sanguinis</i>	18
2.4 Komposite	19
2.4.1 Organische Matrix	19
2.4.2 Füllkörper	20
3 FRAGESTELLUNG	22
4 MATERIAL UND METHODE	23
4.1 Material	23
4.1.1 Bakterienkulturen	23
4.1.2 Künstlicher Speichel	23
4.1.3 Testmaterialien	24

4.2 Methode	26
4.2.1 Versuchsvorbereitung	26
4.2.1.1 Herstellung der Probekörper	26
4.2.1.2 Oberflächeneigenschaften der Prüfkörper	27
4.2.1.2.1 Oberflächenrauigkeit (R_A)	27
4.2.1.2.2 Freie Oberflächenenergie (surface free energy, SFE)	28
4.2.1.3 Kultivieren der Bakterien	28
4.2.1.3.1 Wochenkultur	28
4.2.1.3.2 Versuchskultur	28
4.2.1.4 Vorbereitung der Probekörper	29
4.2.1.4.1 Wasserlagerung	29
4.2.1.4.2 Einkleben in Wellplatten	30
4.2.1.4.3 Eigenfluoreszenzmessung	30
4.2.2 Versuchsdurchführung	31
4.2.2.1 Anlagerung ohne Speichel	32
4.2.2.2 Anlagerung mit Speichel	32
4.2.2.3 Rasterelektronenmikroskop	33
4.3 Auswertung und Statistik	34
4.3.1 Auswertung	34
4.3.2 Statistik	35
5 ERGEBNISSE	36
5.1 Rauigkeit	36
5.2 Freie Oberflächenenergie (surface free energy, SFE)	38
5.3 Bakterielle Adhäsion	40
5.3.1 Vergleich aller Materialien	40
5.3.1.1 <i>Streptococcus mutans</i>	40
5.3.1.1.1 Adhäsion von <i>Streptococcus mutans</i> ohne Pellikel	41
5.3.1.1.2 Adhäsion von <i>Streptococcus mutans</i> mit Pellikel	44
5.3.1.2 <i>Streptococcus sanguinis</i>	47
5.3.1.2.1 Adhäsion von <i>Streptococcus sanguinis</i> ohne Pellikel	48
5.3.1.2.2 Adhäsion von <i>Streptococcus sanguinis</i> mit Pellikel	51
5.3.2 Auswirkungen der Silanisierung der Füllkörper	54
5.3.3 Auswirkungen von BHT-Zusatz	56
5.3.4 Vergleich von <i>Streptococcus mutans</i> und <i>Streptococcus sanguinis</i>	58
5.3.5 Auswirkungen des Pellikels auf die bakterielle Adhäsion	61
5.4 Zusammenhänge	62

6 DISKUSSION	64
6.1 Diskussion der Methoden	64
6.1.1 Testmethode	64
6.1.2 Auswahl des Testkeims	65
6.1.3 Auswertmethoden	66
6.2 Diskussion der untersuchten Materialien	67
6.3 Diskussion der Ergebnisse	68
6.3.1 Einfluss der Oberflächeneigenschaften	68
6.3.2 Auswirkungen der verschiedenen Füllkörper	71
6.3.3 Auswirkungen der Silanisierung der Füllkörper	74
6.3.4 Auswirkungen von BHT-Zusatz	76
6.3.5 Vergleich von <i>Streptococcus mutans</i> und <i>Streptococcus sanguinis</i>	77
6.3.6 Auswirkungen des Pellicels auf die bakterielle Adhäsion	79
7 ZUSAMMENFASSUNG	82
8 LITERATURVERZEICHNIS	84
9 DANKSAGUNG	100
10 LEBENSLAUF	101

1 Einleitung

Karies ist eine der häufigsten Infektionskrankheiten in Deutschland. Fast jeder Mensch erkrankt mindestens einmal in seinem Leben an Karies. Es ist bekannt, dass spezifische orale Biofilme hierfür verantwortlich sind [PIHLSTROM et al., 2005; SELWITZ et al., 2007]. Ein wichtiger Schritt in der Entstehung der Karies ist die Besiedelung der Zahnhartsubstanzen und der restaurativen Materialien mit oralen Bakterien. Die Bakterien binden dabei nicht direkt an der Oberfläche von Zahnhartsubstanzen bzw. Restaurationen, sondern an das Pellikel [HAHNEL et al., 2008]. Dies ist eine 0,1 bis 1 μm dünne Schicht [GARCÍA-GODOY et al., 2008] aus adsorbierten Proteinen, verschiedenen Enzymen, Glykoproteinen und Makromolekülen [HANNIG et al., 2005; HANNIG et al., 2006]. Das Pellikel bildet sich innerhalb weniger Minuten und beeinflusst die Adhäsion oraler Bakterien. Es zeigen sich jedoch materialspezifische Unterschiede in der Pellikelbildung und anschließender Bakterienadhäsion. Während Keramiken nur in geringem Umfang mikrobiell besiedelt werden, zeigen Komposite eine erhöhte Tendenz zur Ausbildung eines dentalen Biofilms [EICK et al., 2004; ROSENTRITT et al., 2008; ZALKIND et al., 1998]. Als Folge kann man am Rand von Kompositfüllungen vermehrt Sekundärkaries und gingivale Entzündungen beobachten [FRIEDL et al., 1995]. Aufgrund dieser Tatsache wäre es wünschenswert, einen Komposit zu entwickeln, der eine reduzierte Plaquebildung aufweist. Zahlreiche Studien bestätigen eine Abhängigkeit der bakteriellen Adhäsion von der Oberflächenrauigkeit [AN et al., 1998; QUIRYNEN et al., 1995; SARDIN et al., 2004; TEUGHELS et al., 2006]. Dieser Einfluss kann allerdings durch Politur beseitigt werden [KAWAI et al., 2001]. Daher steht verstärkt die Zusammensetzung der Materialien im Fokus der Untersuchungen. Füllkörper sind ein wichtiger Bestandteil von Kompositen. Diese Füllkörper weisen eine immer kleinere Größe auf, was eine bessere Polierbarkeit gewährleistet, sowie sehr hohe Füllkörperanteile realisieren lässt. Daraus resultieren gute ästhetische Eigenschaften, ohne die mechanischen Eigenschaften zu reduzieren [MASOURAS et al., 2008]. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Einflüsse verschiedener Füllkörper in Kompositmaterialien auf die initiale Adhäsion von Bakterien zu untersuchen und mögliche Zusammenhänge zwischen der Anlagerung und den unterschiedlichen Füllkörpern aufzuzeigen.

2 Literaturübersicht

2.1 Physiologische Grundlagen

2.1.1 Speichel

2.1.1.1 Bildung

Speichel wird von den drei großen paarigen Speicheldrüsen *Glandula parotis*, *Glandula submandibularis* und *Glandula sublingualis* produziert [MESE et al., 2007; MURER et al., 2005; PEDERSEN et al., 2002]. Zusammen mit zahlreichen kleineren Drüsen, die sich multilokulär in der Mundhöhle befinden, produzieren sie etwa 0,6 bis 1,5 l Speichel am Tag (durchschnittlich 0,3 ml/min), der auch als Ruhespeichel bezeichnet wird [EDGAR, 1990; HOLSINGER et al., 2007; MESE et al., 2007; HUMPHREY et al., 2001; VAUPEL, 2007]. Etwa 90% des Gesamtspeichels produzieren die großen Drüsen [MESE et al., 2007; PEDERSEN et al., 2002]. Die *Glandula parotis* ist eine rein seröse Drüse und sezerniert Wasser, Elektrolyte und Glykoproteine. Die *Glandula submandibularis* als überwiegend seröse und die *Glandula sublingualis* als überwiegend muköse Drüse, sezernieren neben Wasser, Elektrolyten und Glykoproteinen auch saccharidreiche Glykoproteine [HICK et al., 2002; VAUPEL, 2007]. In Ruhe produziert die *Glandula submandibularis* 70% des Speichels, die *Glandula parotis* 25% und die *Glandula sublingualis* 5%. Unter Stimulation erhöht sich die Menge der *Glandula parotis* auf 38%, die Menge der *Glandula submandibularis* und *Glandula sublingualis* nehmen auf 60% bzw. 2% ab [VAUPEL, 2007]. Der stimulierte Speichel wird unter anderem durch Kauen oder Reizung der Geschmacks- und Sinnesnerven sezerniert [VAUPEL, 2007]. Die Menge des unter Stimulation sezernierten Speichels kann bis maximal 7 ml/min erhöht werden und macht etwa 80 bis 90% der täglichen Speichelproduktion aus [AXELSSON, 2000; EDGAR, 1990; EDGAR, 1992; EDAGR et al., 2004; HUMPHREY et al., 2001]. Eine Aktivierung des Parasympathikus bewirkt über M3-Rezeptoren in allen Drüsen einen erheblichen Anstieg der Sekretion eines dünnflüssigen, glykoproteinarmen Speichels. Eine Erregung des Sympathikus löst dagegen, durch Stimulation der *Glandula sublingualis*, die Sekretion geringer Mengen eines viskosen, Muzin-, K⁺ - und HCO₃⁻-reichen Speichels aus [SMITH et al., 1998; VAUPEL, 2007]. In Ruhe liegt der pH-Wert des Speichels zwischen 6,5 und 6,9. Bei Stimulation steigt der pH-Wert auf 7,0 bis 7,2 an [AXELSSON, 2000; VAUPEL, 2007] und fällt bei verminder-

ter Sekretion auf Werte von unter 6,0 ab [DE ALMEIDA et al., 2008; HUMPHREY et al., 2001].

2.1.1.2 Zusammensetzung

Der Gesamtspeichel besteht zu 99% aus Wasser [HUMPHREY et al., 2001; VAUPEL, 2007]. Die restlichen Bestandteile bilden anorganische und organische Komponenten, deren Zusammensetzung individuell, wie auch bei verschiedenen Sekretionsraten, starken Schwankungen unterworfen ist [HOLSINGER et al., 2007; VAUPEL, 2007]. Bei Passage der Ausführungsgänge wird der primär plasmatisotone, in den Drüsen produzierte Speichel, durch Sezernierungs- und Resorptionsvorgänge, weiter in einen hypotonen Mundspeichel modifiziert [EDGAR et al., 2004; HOLSINGER et al., 2007; HUMPHREY et al., 2001; MURER et al., 2005; TURNER et al., 2002; VAUPEL, 2007]. Die wichtigsten anorganischen Bestandteile sind die Elektrolyte Natrium, Kalium, Kalzium, Phosphat, Chlorid, Magnesium und Hydrogencarbonat. Des Weiteren finden sich Ionen von Kupfer, Fluor, Jod und Ammonium [BUDDECKE, 1981; VAUPEL, 2007]. Zu den organischen Bestandteilen zählen nieder- und hochmolekulare Komponenten. Bei den niedermolekularen Bestandteilen findet man Harnstoff, Harnsäure, Lactat, Citrat, Glucose, sowie einige reduzierende Substanzen [EDGAR, 1992; HUMPHREY et al., 2001; BUDDECKE, 1981]. Der größte Teil der organischen Komponenten sind Makromoleküle wie Muzine, Glykoproteine, Haptocorrine, prolinreiche Proteine, Lipasen, sowie α -Amylase, Lysozym, Laktoferrin und sekretorisches Immunglobulin A (IgA) [HOLSINGER et al., 2007; VAUPEL, 2007].

2.1.1.3 Funktion

Die Eigenschaften des Speichels und seiner enthaltenen Komponenten, sind multifunktionell, redundant und amphifunktionell [LEVINE et al., 1993]. Durch den Speichel wird die Nahrung gleitfähig gemacht, die Geschmackswahrnehmung gefördert, der Mund feucht gehalten und das Sprechen erleichtert [HOLSINGER et al., 2007; MESE et al., 2007; MURER et al., 2005; PEDERSEN et al., 2002; VAUPEL, 2007]. Der Speichel hat eine reinigende [DE ALMEIDA et al., 2008] und durch seinen Gehalt an Lysozym, Laktoferrin, prolinreichen Proteinen und sekretorischem IgA eine antibakterielle bzw. antivirale Wirkung [PEDERSEN et al.,

2002; VAUPEL, 2007]. Durch eine dynamische Konzentration an freien Calcium-, Phosphat- und Fluoridionen, kommt es durch Re- bzw. Demineralisation zu einer Kontrolle der Stabilität des im Schmelz enthaltenen Hydroxylapatits [AXELSSON, 2000]. Zudem ist eine Stabilität des pH-Werts in der Mundhöhle notwendig, was durch spezifische Puffersysteme von Bicarbonat, Phosphat und Harnstoff, sowie durch Proteine erreicht wird [AXELSSON, 2000; DE ALMEIDA et al., 2008; HUMPHREY et al., 2001]. Durch Amylasen, Proteasen und Lipasen kommt es zur Andauung der Nahrung und zur Bolusbildung [HOLSINGER et al., 2007; HUMPHREY et al., 2001; MURER et al., 2005; NAGLER et al., 2004; PEDERSEN et al., 2002; VAUPEL, 2007].

2.1.2 Pellikel

2.1.2.1 Bildung

Das Pellikel bildet sich innerhalb von Minuten [HANNIG, 1999; VACCA-SMITH et al., 2000]. Somit ist das Pellikel der erste Belag auf der Zahnhartsubstanz bzw. den restaurativen Oberflächen und frei von Bakterien [LENDENMANN et al., 2000; HANNIG et al., 2007]. Die Dicke des Pelliels beträgt nur 0,1 bis 1 μm [GARCÍA-GODOY et al., 2008]. Die Adsorption von Proteinen ist hoch selektiv, da nur ein Teil der im Speichel vorkommenden Proteine im Pellikel gefunden wird [HANNIG et al., 2009; HANNIG et al., 2006; YAO et al., 2003]. So konnte gezeigt werden, dass die Zusammensetzung der Aminosäuren des frühen Pelliels sich von der des Speichels unterscheidet [TEUGHELS et al., 2006]. Dieser Vorgang ist das Ergebnis einer Vielzahl verschiedener Interaktionen, die zeitgleich zwischen den einzelnen Komponenten (Speichel, im Speichel gelöste Proteine und Festkörper) auftreten und mit unterschiedlicher Kinetik ablaufen [LAMKIN et al., 1996]. Die ersten adsorbierenden Proteine sind Phosphoproteine (z. B. Statherin, Histatin und prolinreiche Proteine), die eine hohe Affinität zu Hydroxylapatit aufweisen [HANNIG et al., 2006; LINDH et al., 2002]. Anschließend kommt es zur Anlagerung weiterer Biomoleküle, bis die Pellikelbildung ein Plateau erreicht [SKJØRLAND et al., 1995]. Für das schnelle Wachstum des Pelliels innerhalb von 30 bis 90 min ist vor allem die Aggregation der einzelnen Proteine verantwortlich [RØLLA, et al., 1994; RYKKE et al., 1995; VITKOV et al., 2004]. Bei den wirkenden Kräften kann man zwischen Kräften mit großer Reichweite von 50 bis 100 nm (van der Waals-Kräfte, Coulomb-Kräfte), mittlerer Reichweite von 10 bis 50 nm (hydrophobe Wechselwirkungen) und kurzer Reichweite von etwa 5 nm (elektrostatische, ionische und Säure-Base

Wechselwirkungen, kovalente Bindungen und Wasserstoffbrückenbindungen) unterscheiden [VAN OSS et al., 2003]. Als wichtigste, nicht-kovalente Bindungen werden Säure-Base Wechselwirkungen und Elektronenakzeptor/Elektronendonor Wechselwirkungen beschrieben [VAN OSS et al., 2003]. Nach der ersten Adhäsion, ist die Adsorption von Proteinen durch eine Umorientierung und strukturelle Neuordnung charakterisiert, woraus sich Änderungen der Konformation ergeben [GRAY, 2004]. Durch die Konformationsänderung der Moleküle kommt es zur Freilegung weiterer Rezeptoren, die von Bakterien erkannt werden können [TEUGHELS et al., 2006]. Die geladenen Gruppen verteilen sich anhand ihrer Polarität auf der Materialoberfläche, was zu einer negativ geladenen Oberfläche führt, die ein hydrophobes Inneres umhüllt [NORDE, 1995; RØLLA, et al., 1994; RYKKE et al., 1995]. Dadurch kommt es zur Verdrängung von Wasser, was sich in einer Zunahme der Entropie zeigt und die treibende Kraft der Pellikelbildung ist [HANNIG et al., 2006; VASSILAKOS et al., 1993]. Die Umverteilung der geladenen Proteine wird reguliert durch den pH-Wert der umgebenden Flüssigkeit, den isoelektrischen Punkt und niedermolekulare Ionen [HANNIG, 2008]. Durch die adsorbierten Proteine werden die Eigenschaften der Oberfläche verändert. Es kommt zu einer Maskierung der Unterschiede der freien Oberflächenenergie und dadurch zu einer Änderung der Voraussetzungen für die bakterielle Adhäsion [SATOU et al., 1991]. Von einigen Autoren wird auch berichtet, dass der Einfluss der eigentlichen Oberflächeneigenschaften, trotz Bedeckung mit Pellikel, nicht vollständig beseitigt wird („shine-through effect“) [ABBOTT et al., 1983; GOOBES et al., 2008; MÜLLER et al., 2007; PRATT-TERPSTRA et al., 1987; PRATT-TERPSTRA et al., 1989; REYNOLDS et al., 1983].

2.1.2.2 Zusammensetzung

Das Pellikel besteht aus adsorbierten Proteinen, verschiedenen Enzymen, Glykoproteinen und Makromolekülen [HANNIG et al., 2005; HANNIG et al., 2006; LENDEMANN et al., 2000; LI et al., 2004]. Unter den Proteinen finden sich Phosphoproteine, saure prolinreiche Proteine, Glykoproteine und Muzine. Des Weiteren finden sich Plasmaproteine, Immunglobuline (IgA, IgG, IgM), Blutgruppensubstanzen (Laktoferrin, Transferrin, Fibrinogen, Albumin) und Enzyme (α -Amylase, Lysozym, Laktoperoxidase) [AL-HASHIMI et al., 1989; DEIMLING et al., 2007; HANNIG et al., 2005; HANNIG et al., 2006; HANNIG et al., 2007; LI et al., 2003; YAO et al., 2003]. Kohlenhydrate im Pellikel sind Glucose, Mannose, Fucose, Galactose, Glucosamin und Galactosamin [MAYHALL et al., 1976; SÖNNU et al., 1975]. Als

Lipide sind vor allem freie Fettsäuren, Cholesterin, Cholesterinester, Sphingomyelin und Phosphatidylethanolamin zu finden [SLOMIANY et al., 1986]. Auch Aminosäuren wie Alanin, Glycin, Serin, Prolin, Asparaginsäure und Glutaminsäure zählen zu den Bestandteilen des Pellikels [AL-HASHIMI et al., 1989; RYKKE et al., 1989; YAO et al., 2001].

2.1.2.3 Funktion

Die Funktion des Pellikels ist ambivalent. Zum Einen bildet es eine Schutzbarriere und einen Puffer als eine Art Schmierschicht bei abrasiven Vorgängen, wie z. B. Kauen [HANNIG et al., 2007; HANNIG et al., 2004; HANNIG et al., 2006; LENDENMANN et al., 2000]. Weitere Schutz bieten die antibakteriellen Proteine Laktoferrin, Cystatin und Lysozym [DEIMLING et al., 2007; HANNIG et al., 2005; HANNIG et al., 2006; HANNIG et al., 2007; VACCA-SMITH et al., 2000], sowie IgA [CARLÉN et al., 1998; CARLÉN et al., 2003; DEIMLING et al., 2007; LI et al., 2004]. Durch die Bedeckung des Zahnes mit einem Pellikel wird der Schmelz vor Demineralisation geschützt und bietet eine Möglichkeit zur posteruptiven Schmelzreifung [GARCÍA-GODOY et al., 2008]. Dabei unterstützen gebundene Proteine wie Statherin und prolinreiche Glykoproteine eine Übersättigung der flüssigen Phase des Pellikels mit Calcium- und Phosphationen [GARCÍA-GODOY et al., 2008]. Andererseits weist das Pellikel Eigenschaften auf, die die bakterielle Adhäsion erleichtern. Einige Pellikelkomponenten, wie α -Amylase, prolinreiche Proteine, Mucin MG2, Fibrinogen und Lysozym dienen als spezifische Rezeptoren für Bakterien [DOUGLAS, 1994; HANNIG et al., 2006; HANNIG et al. 2007; ROGERS et al., 1998]. Es wird auch berichtet, dass der homogenisierende Effekt des Pellikels auf die Eigenschaften der Materialoberfläche, zu einer reduzierten Anlagerung von Bakterien führt [AHN et al., 2002; EDGERTON et al., 1996; MÜLLER et al., 2007; SHAHAL et al., 1998; SIPAHI et al., 2001; TANNER et al., 2000].

2.1.3 Bakterielle Adhäsion (Plaquebildung)

Damit Bakterien in der Mundhöhle proliferieren und überleben können, ist, aufgrund der hydrodynamischen Bedingungen des oralen Milieus, eine irreversible Adhäsion auf der Zahnoberfläche nötig [BRADSHAW et al., 2001; THEUGELS et al., 2006]. Dabei sind adhärierte Bakterien ablösenden Kräften durch Schlucken, Scherkräften durch Nahrung, Zunge, Mundhygiene, sowie dem Fluss von Speichel und Sulkusflüssigkeit ausgesetzt [DIAZ et al., 2006; KATSIKOGLIANNI et al., 2004; TEUGHELS et al., 2006]. Stellen mit reduziertem Einfluss dieser Kräfte, an denen sich bevorzugt Bakterien anlagern, sind z. B. Oberflächenrauigkeiten und Fissuren [CARLÉN et al., 2001; MORGAN et al., 2001; MÜLLER et al., 2007; NYVAD et al., 1987; QUIRYNEN et al., 1995; TANNER et al., 2003]. Die Adhäsion von pellikelbeschichteten Bakterien an pellikelbeschichteten Oberflächen erfolgt über spezifische extrazelluläre, proteinartige Komponenten (Adhesine) auf der Oberfläche der Mikroorganismen und komplementären Rezeptoren (Proteine, Glykoproteine oder Polysaccharide) auf der Substratoberfläche (z. B. Pellikel) [TEUGHELS et al., 2006]. Bei der Bildung eines Biofilms können vier Stadien unterschieden werden (Abb. 2.1) [BOS et al., 1999; BUSSCHER et al., 1990; SCHEIE et al., 1994]:

1. Transport der Mikroorganismen zur Materialoberfläche
2. Initiale Adhäsion
3. Irreversible Bindung (Sekundäre Adhäsion)
4. Kolonisation/Plaquereifung

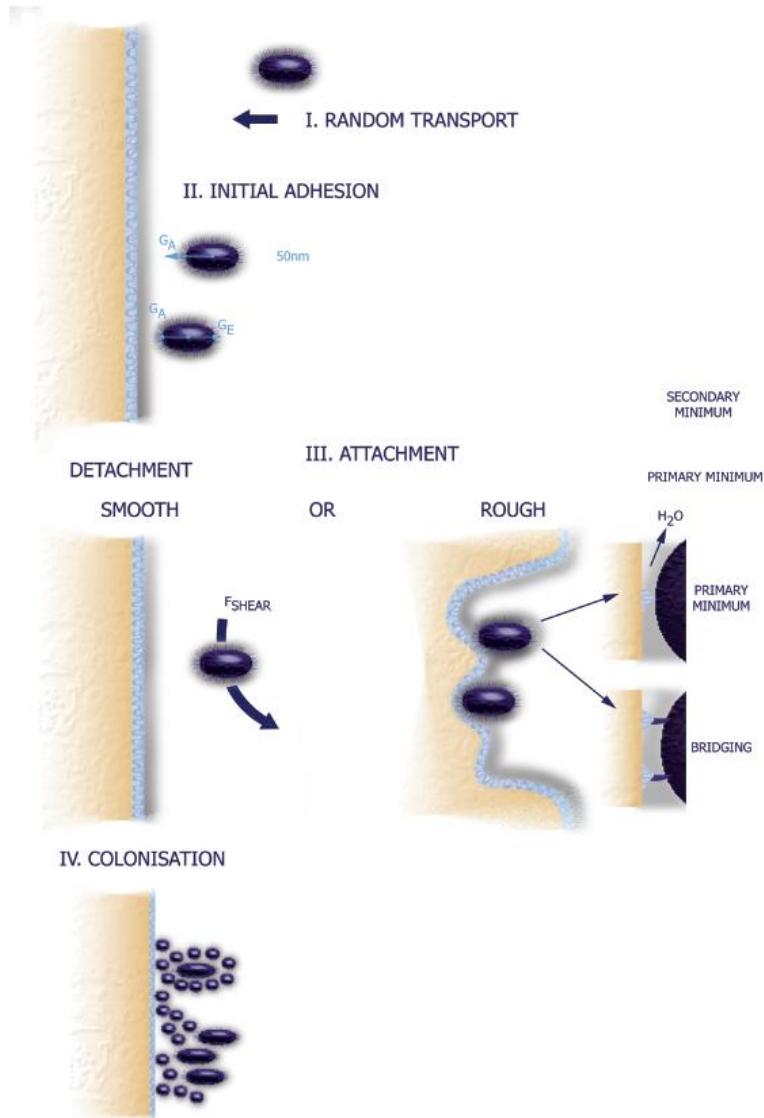


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung der Bildung einer dentalen Plaque als vierstufiger Prozess [aus TEUGHELS et al., 2006]

2.1.3.1 Transport der Mikroorganismen zur Materialoberfläche

Der Transport der Bakterien zur Oberfläche kann über passive Kräfte, wie Brown'sche Bewegung (ca. 40 $\mu\text{m}/\text{h}$), Speichelströmung und Sedimentation der Bakterien in der Lösung oder durch aktive Eigenbewegung der Bakterien erfolgen [AN et al., 1998; BOS et al., 1999].

2.1.3.2 Initiale Adhäsion

Die initiale Adhäsion von Bakterien ist ein essentieller Schritt bei der Bildung des oralen Biofilms und beeinflusst die Zusammensetzung der ausgereiften Plaque [KOLENBRANDER et al., 2000]. Charakterisiert wird die initiale Adhäsion durch schwache, reversible Bindungen, die durch Kräfte mit langer und kurzer Reichweite vermittelt werden (Abb. 2.2) [MARSH et al., 1995; MARSH et al., 1999; TEUGHELS et al., 2006]. Dabei auftretende Kräfte können anziehend (van der Waals-Kräfte, hydrophobe Wechselwirkungen, Wasserstoff- und Kalziumbrückenbindungen), abstoßend (elektrostatische Wechselwirkungen) oder beides (Säure-Base Wechselwirkungen) sein [TEUGHELS et al., 2006].

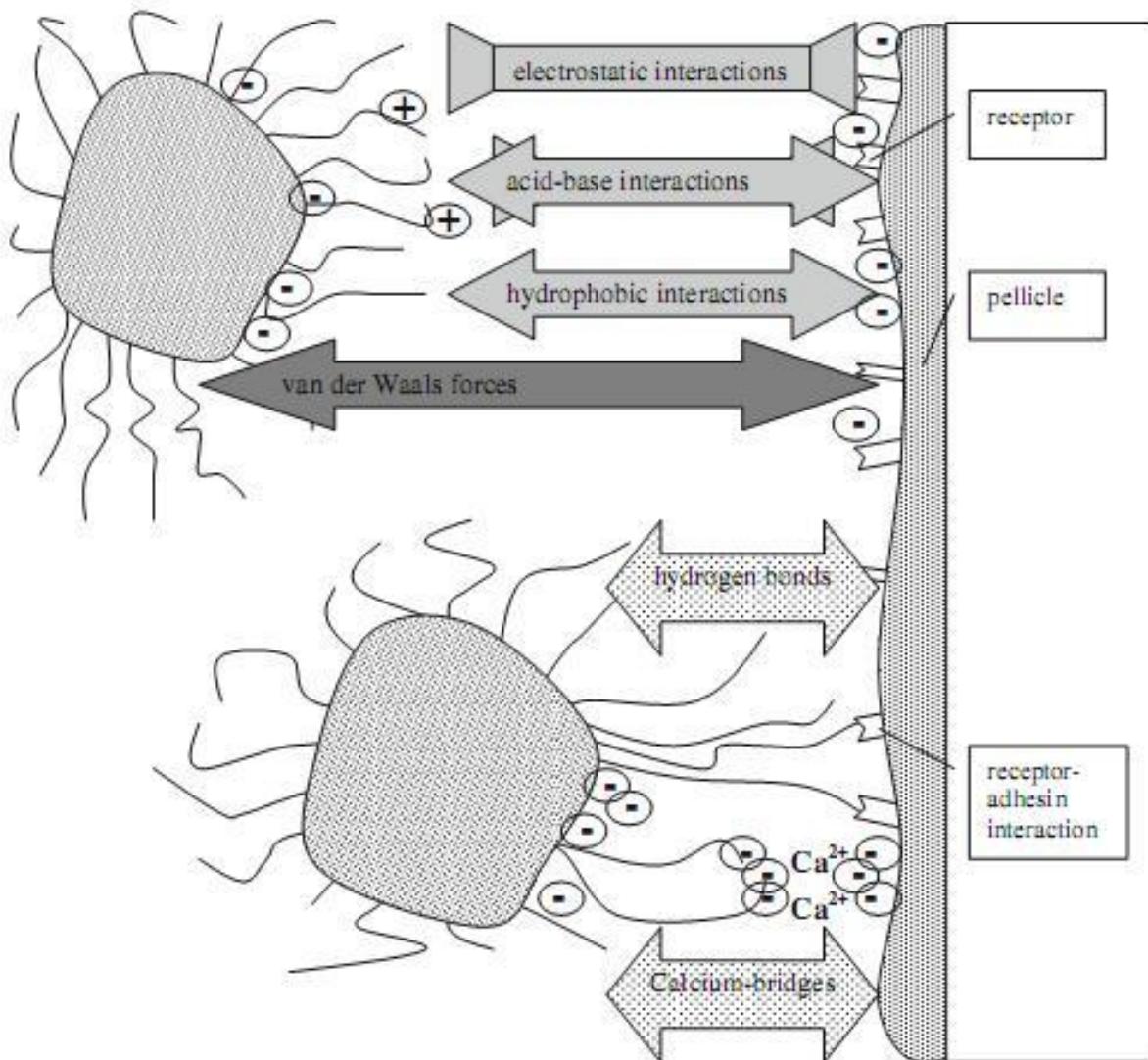


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung der initialen bakteriellen Adhäsion auf einer pellikelbeschichteten Oberfläche [aus HANNIG et al., 2009]

Zum Einen wird davon ausgegangen, dass die Bakterien, dem thermodynamischen Gesetz folgend, an der Oberfläche haften. Dabei kommt es durch Ausschluss von Wasser zu einer Minimierung der Energie, was zu einer spontanen Anlagerung führt [NORDE, 1995; TEUGHELS et al., 2006]. Ein weiterer Denkansatz ist die DLVO-Theorie (Abb. 2.3; benannt nach Derjaguin, Landau, Verwey und Overbeek). Sie beschreibt die Interaktion von negativ geladenen Bakterien mit der negativ geladenen Oberfläche eines Festkörpers in einer wässrigen Lösung [HANNIG et al., 2009]. Sowohl das Bakterium, als auch die Oberfläche sind von einer elektrischen Doppelschicht (Stern-Layer) umgeben, die sich in wässriger Lösung spontan bildet. Hierbei sind zwei Kräfte von Bedeutung. Einerseits die anziehenden Lifshitz-van der Waals-Kräfte (G_A), andererseits abstoßende elektrostatische Kräfte (G_E). Bei Überlappung der beiden Doppelschichten kommt es zu elektrostatischen Wechselwirkungen, welche in einem bestimmten Abstand ein Gleichgewicht bilden [BUSSCHER et al., 1990; QUYRINEN et al., 1995; TEUGHELS et al., 2006].

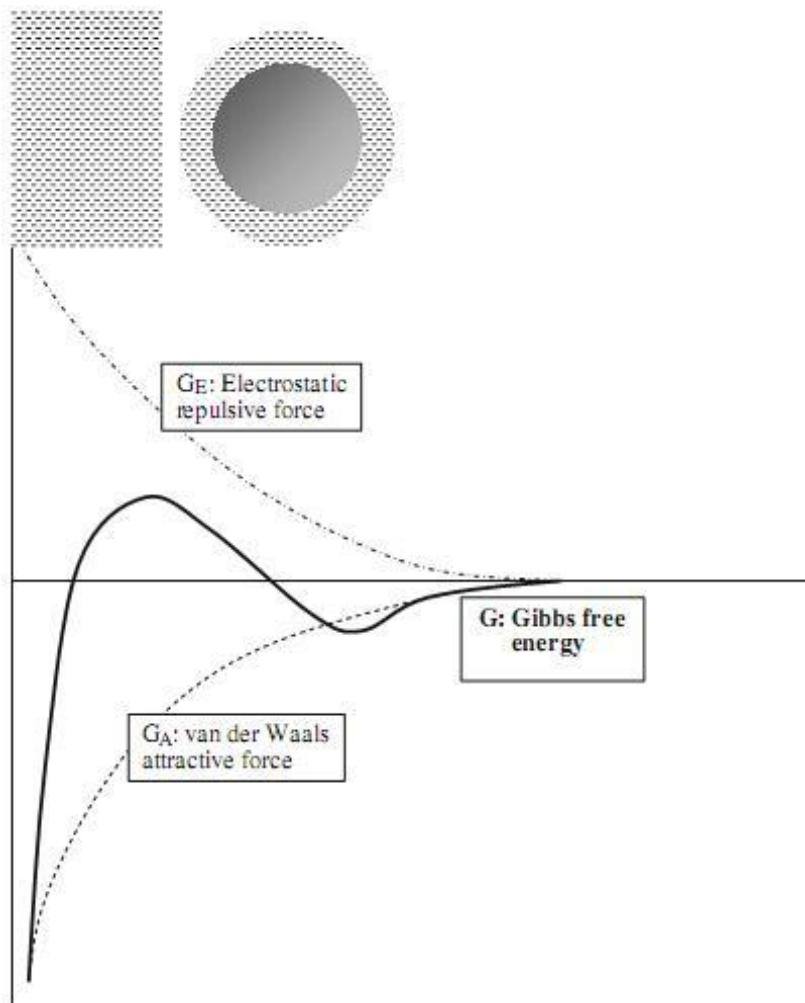


Abbildung 2.3: DLVO-Theorie; Interaktion von negativ geladenen Bakterien bzw. Proteinen und einer negativ geladenen Oberfläche [aus HANNIG et al., 2009]

2.1.3.3 Irreversible Bindung (Sekundäre Adhäsion)

Der Übergang von initialer Adhäsion, hin zur irreversiblen Adhäsion wird durch aktive bakterielle Prozesse, wie z. B. das Haften der Bakterien über ausgeschiedene extrazelluläre polymere Substanzen ermöglicht [FLEMMING et al., 2007]. Es kommt zur Ausbildung spezifischer Interaktionen von Mikroorganismen und Speichelproteinen [VAN DER MEI et al., 2008]. Dabei zeigen die meisten Bakterien mehrere spezifische Adhäsionsmechanismen [WHITTAKER et al., 1996]. Hierzu sind spezifische Rezeptoren notwendig, da Bakterien unter den Bedingungen der Mundhöhle ablösenden Kräften widerstehen müssen [DIAZ et al., 2006; TEUGHELS et al., 2006]. Als Pionierbakterien, die sich zuerst selektiv an das Pellicel anheften, bezeichnet man vor allem Gram-negative *Kokken* (*Streptococcus Sanguinis*, *Streptococcus Mitis*, *Streptococcus Oralis*) und *Aktionomyzeten* (*Actinomyces Viscosus*) [DIAZ et al., 2006; LI et al., 2004; WHITTAKER et al., 1996]. Neben diesen Bakterien findet man auch *Gemella spp.*, *Granulicatella spp.*, *Neisserien*, *Prevotella spp.*, *Rothia spp.*, sowie *Veillonellen* und *Clostridien* [KOLENBRANDER et al., 2006]. *Streptokokken* (insbesondere *S. sanguinis*) binden an saure prolinreiche Proteine (PRP's) und andere Rezeptoren des Pellicels, wie α -Amylase oder Sialsäure [SCANNAPIECO et al., 1995; WHITTAKER et al., 1996]. *S. mutans* geht spezifische Bindungen mit den im Speichel enthaltenen Muzinen ein [GE et al., 2004]. *Actinomyces Viscosus* besitzt Fimbrien, die Adhäsine enthalten und spezifisch an PRP's des Pellicels binden [GIBBONS et al., 1988; MERGENHAGEN et al., 1987]. Dabei erkennt *Actinomyces Viscosus* bestimmte Abschnitte der PRP's, die nur im adsorbierten Zustand frei liegen [GIBBONS et al., 1988]. Die spezifischen Bindungen zeigen höhere Adhäsionskräfte als unspezifische Bindungen, da sich die Bindungen zwischen den Speichelproteinen und der Bakterienoberfläche mit der Zeit verstärken [VAN DER MEI et al., 2008].

2.1.3.4 Kolonisation/Plaquereifung

Nachdem sich eine einschichtige Bakterienschicht gebildet hat, beginnt die Ausbildung des Biofilms. Dies geschieht durch Vermehrung der adhärierten Bakterien und der Anlagerung weiterer Bakterienspezies [TEUGHELS et al., 2006]. Nach etwa vier Stunden kann man ein gehäuftes Auftreten der Pionierbakterien beobachten [KLIMEK et al., 1999]. Ab diesem Zeitpunkt kommt es zur Koadhäsion bzw. Koaggregation von Bakterien, einer spezifischen Haltung zwischen zwei genetisch identischen bzw. genetisch unterschiedlichen Bakterienarten

[SCHIERHOLZ et al., 1999]. Jede neu haftende Zelle bildet mit ihrer Oberfläche eine potentielle Koaggregationsbrücke zu weiteren Zellen [TEUGHELS et al., 2006]. Die Meisten der oral vorkommenden Bakterien zeigen untereinander Formen von Koaggregation [KOLENBRANDER et al., 2002]. Im Wesentlichen besitzen alle oralen Mikroorganismen Oberflächenmoleküle, die eine Zell-Zell-Wechselwirkung begünstigen [KOLENBRANDER et al., 1993]. Dies sind hochspezifische Wechselwirkungen zwischen Proteinen und Kohlenhydraten auf der Bakterienoberfläche, neben den weniger spezifischen hydrophoben und elektrostatischen Wechselwirkungen, sowie den van der Waals-Kräften, wodurch die Bakterien in engen Kontakt zueinander kommen [KOLENBRANDER et al., 1989; KOLENBRANDER et al., 1993; KOLENBRANDER et al., 1995]. *Fusobakterien* koaggregieren mit allen oralen Bakterien, während *Veillonellen*, *Capnocytophagen* und *Prevotellen* bevorzugt an *Streptokokken* und *Actinomyceten* binden [KOLENBRANDER et al., 1993; KOLENBRANDER et al., 1995; WHITTAKER et al., 1996]. Zwischen verschiedenen Bakterienstämmen werden die meisten Koaggregationsvorgänge durch lektinähnliche Adhäsine vermittelt und können durch Laktose und andere Galaktoside gehemmt werden [KOLENBRANDER et al., 2006]. Tier- und *in vitro* Studien zeigen den Einfluss der Koaggregation auf Biofilmbildung [BRADSHAW et al., 1998]. Koaggregationsvorgänge fördern die Entwicklung des Biofilms [LI et al., 2004; DIAZ et al., 2006], da, durch die enge Lage der Bakterien, deren Kommunikation bei der Produktion und Erkennung von Metaboliten und Signalmolekülen erleichtert wird [EGLAND et al., 2004; KOLENBRANDER et al., 2002; SURETTE et al., 1999]. Nach etwa einem Tag kann man einen Bakterienrasen feststellen, der teilweise aus mehreren Zelllagen und Pellicelbestandteilen besteht [HELLWIG et al., 2006]. Folge der bakteriellen Adhäsion an das Pellicel ist die Ausbildung einer dentalen Plaque, die man als komplexen, aus Speichelbestandteilen, Stoffwechselprodukten von Bakterien, Nahrungsresten und Bakterienzellen bestehenden Biofilm beschreiben kann [KLIMEK et al., 1999]. Es kommt zu einer Verschiebung der Mikroorganismen der Plaque von *Kokken* hin zu *Aktinomyceten*, so sind z. B. die Pionierbakterien in der ausgereiften Plaque kaum mehr zu finden. Durch den Sauerstoffverbrauch durch *aerobe* und *fakultativ aerobe* Bakterienarten kommt es zu einer Zunahme von *obligat anaeroben* Bakterienarten. Hierzu zählen vor allem *Veillonellen*, *Corynebakterien*, *Fusobakterien*, *Stäbchen* und *Filamente*, die in einer 7 - 14 Tage alten Plaque dominieren [KLIMEK et al., 1999; MARSH et al., 2003]. Die bakterielle Zusammensetzung der Plaque kann in der Mundhöhle an verschiedenen Stellen deutliche Unterschiede zeigen. Dabei finden sich in der dentalen Plaque 200 - 300 verschiedene Bakterienspezies [HAMILTON et al., 2000]. Bakterien liegen in der Plaque nicht als unabhängige Einheiten

vor, sondern fungieren als eine koordinierte, metabolisch eingebundene Gemeinschaft [MARSH et al., 1999; MARSH et al., 2000]. Die Plaque wird daher als vielfältige Gemeinschaft von Mikroorganismen beschrieben. Sie findet sich auf der Zahnoberfläche als Biofilm, der in eine extrazelluläre Matrix von Polymeren eingebettet ist und nicht mehr durch die Selbstreinigungskräfte der Mundhöhle entfernt werden kann [MARSH et al., 2004]. Dabei verhält sich die dentale Plaque wie ein klassischer Biofilm [MARSH et al., 2004; SOCRANSKY et al., 2002].

2.2 Physikalisch-chemische Faktoren der bakteriellen Adhäsion

2.2.1 Freie Oberflächenenergie (surface free energy, SFE)

Die freie Oberflächenenergie (SFE) ist ein physikalischer Wert und wird in der Einheit mJ/cm^2 angegeben. Sie beschreibt die gesamte Energie auf der Oberfläche eines Festkörpers, entsprechend der Oberflächenspannung einer Flüssigkeit [HANNIG, 2009]. Nach dem thermodynamischen Gesetz wird die freie Oberflächenenergie als entscheidender Faktor bei der Adsorption von Bakterien betrachtet [TEUGHELS et al., 2006]. Die Grundlage einer spontanen Bakterienadsorption an Grenzflächen von Fest und Flüssig ist nach dem Gibb'schen Gesetz eine Minimierung der Energie und eine Zunahme der Entropie [NORDE, 1995; TEUGHELS et al., 2006]. Das heißt, dass an Oberflächen mit niedriger SFE bevorzugt Bakterien mit ebenfalls niedriger SFE haften und umgekehrt [MABBOUX et al., 2004; QUIRYNEN et al., 1995; TEUGHELS et al., 2006; WEERKAMP et al., 1988]. Eine Zunahme der SFE scheint die Bildung eines Biofilms auf natürlichen Zahnoberflächen und restaurativen Oberflächen zu erleichtern [ARVIDSSON et al., 2004; QUIRYNEN et al., 1995; TAYLOR et al., 1998; TEUGHELS et al., 2006].

2.2.2 Oberflächenrauigkeit (R_A)

Ein Anstieg der Oberflächenrauigkeit (Oberflächenrauheit, R_A) über einen Wert von $R_A = 0,2 \mu\text{m}$ erleichtert die Bildung eines Biofilms [BOLLEN et al., 1997; CARLÉN et al., 2001; KAWAI et al., 2001; MORGAN et al., 2001; MÜLLER et al., 2007; QUIRYNEN et al., 1996; TANNER et al., 2003; TEUGHELS et al., 2006; TSANG et al., 2007]. Unter die-

sem Wert kann durch Politur keine weitere Reduktion der Bakterienadhäsion erreicht werden [BOLLEN et al., 1997]. Der Einfluss der Oberflächenrauigkeit ist vor allem bei aktiven Scherkräften, *in vivo* und *in situ*, von größerer Bedeutung [HANNIG et al., 1999]. Die mittlere Rauigkeit wird mittels Tastschlittenprinzip bestimmt und stellt das arithmetische Mittel des Oberflächenprofils dar.

2.2.3 Zeta-Potential

Das Zeta-Potential ist das elektrostatisch wirksame Potential an der Grenzfläche eines Partikels in einer Suspension und hängt von der Polarität der adsorbierten Ionen, der Ladung der Materialoberfläche und der Ionenkonzentration der Flüssigkeit ab [KINNARI et al., 2009]. Eine Änderung des pH-Wertes zeigt ebenfalls eine Änderung des Zeta-Potentials [KINNARI et al., 2009]. Ein erhöhtes Zeta-Potential führt zu einer verminderten Anlagerung von Bakterien [WEERKAMP et al., 1988].

2.2.4 Hydrophobie

Die bakterielle Adsorption ist von der Hydrophilie bzw. Hydrophobie der Materialoberfläche, wie auch von der Hydrophilie bzw. Hydrophobie der Protein- bzw. Bakterienoberfläche abhängig [HANNIG, 2008]. Generell bevorzugen hydrophobe Bakterien hydrophobe Oberflächen, Bakterien mit hydrophilen Eigenschaften bevorzugen hydrophile Materialien [AN et al., 1998; MORGAN et al., 2001; QUIRYNEN et al., 1995]. An hydrophilen Oberflächen findet bevorzugt Wasseranlagerung statt, was die Adsorption von Proteinen behindert. Auf der anderen Seite findet man auf einer hydrophoben Oberfläche eine vermehrte Ansammlung von Proteinen [CHRISTERSSON et al., 2000; EICK et al., 2006; LINDH et al., 1999; LINDH, 2002; LINDH et al. 2002; NORDE, 1995; VASSILAKOS et al., 1992; VASSILAKOS et al., 1993]. Die Bestimmung der Hydrophobie erfolgt über die Messung der Kontaktwinkel verschiedener Flüssigkeiten auf der Oberfläche der Probekörper. In den meisten Fällen zeigt die Hydrophobie eine Korrelation zur freien Oberflächenenergie. Mit steigender Hydrophobie kommt es zu einer Abnahme der freien Oberflächenenergie [VAN LOOSDRECHT et al., 1987].

2.3 *Streptococcus mutans* und *Streptococcus sanguinis*

In der vorliegenden Arbeit werden als repräsentative Keime der Mundhöhle, die beiden Gram-positiven, *fakultativ anaeroben* Kokkenarten, *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) und *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*), ausgewählt. Sie zählen beide zu den wichtigen säureresistenten Bakterien, die in der dentalen Plaque vorgefunden werden [HELLWIG et al., 2006; KLIMEK et al., 1999; SVENSATER et al., 2003].

S. mutans trägt zwar wenig zur initialen Adhäsion an Oberflächen bei, spielt aber bei der Kariesentstehung eine besondere Rolle [GAINES et al., 2003; NYVAD et al., 1990; SELWITZ et al., 2007]. Er besitzt die Fähigkeit aus Saccharose über eigene Glycosyltransferasen extrazelluläre, nicht wasserlösliche Polysaccharide (Glucane) zu bilden, die die Grundlage für eine feste Adhäsion an der Zahnoberfläche sind und dem Zusammenhalt der Bakterienkolonien dienen [HELLWIG et al., 2006; KLIMEK et al., 1999; MARSH et al., 2003; SHEN et al., 2004]. Die Bildung von kurzkettigen Carbonsäuren (Laktat, Pyruvat) durch anaerobe Gycolyse führt zur Demineralisation des Zahnschmelzes und trägt somit zur Kariesentstehung bei [SHAW, 1987]. Diese Säureproduktion kann auch bei Nahrungskarenz aufrechterhalten werden, da *S. mutans* in der Lage ist, intrazelluläre Polysaccharide zu bilden und diese als Substratspeicher nutzen kann.

S. sanguinis gilt als einer der ersten und bedeutendsten Primärbesiedler [BECKER et al., 2002; LI et al., 2004; MARCHANT et al., 2001; ROSAN et al., 2000]. Er haftet an der Zahnoberfläche und stellt eine Adhäsionsstelle für folgende spätbesiedelnde Bakterien dar [KOLENBRANDER et al., 1993]. Diese initiale Adhäsion ist ein wichtiger Schritt für die Ausbildung der dentalen Plaque [DIAZ et al., 2006; LI et al., 2004; WHITTAKER et al., 1996]. Auch dieser Mikroorganismus bildet Glucane aus Saccharose und besitzt die Fähigkeit an Thrombozyten, extrazellulären Matrixproteinen und Speichelproteinen zu binden. Mittels Arginin-Deaminase produziert *S. sanguinis* Harnstoff und Ammoniak, was zu einem Anstieg des pH-Wertes in der Plaque führt [GARCÍA-GODOY et al., 2008]. Die Interaktion von *S. sanguinis* mit *S. mutans* ist ein bedeutender Faktor bei der Entstehung von Karies [BEIGHTON et al., 2004; GE et al., 2008]. *S. sanguinis* ist einer der häufigsten Auslöser einer bakteriellen Endokarditis [MYLONAKIS et al., 2001].

2.4 Komposite

Typische dentale Kunststoffe setzen sich aus einer polymeren Matrix, der organische Füllkörper beigemengt werden, zusammen. Aufgrund der niedrigen Viskosität der Kunststoffmatrix ist es notwendig anorganische Füllkörper zuzusetzen, um die physikalischen und mechanischen Eigenschaften zu verbessern [FERRACANE, 1995; HELLWIG et al., 2006].

2.4.1 Organische Matrix

Die Kunststoffmatrix basiert auf einem Gemisch aus verschiedenen Monomeren. Als Basismonomere werden z. B. Bis-GMA (Bisphenol-A-Glycidyl-Methacrylat) und/oder UDMA (Urethandimethacrylat), sowie verschiedene Modifikationen dieser Moleküle verwendet (Abb. 2.4) [PEUTZFELDT, 1997]. Zur Vernetzung werden niedermolekulare Comonomere wie TEGDMA (Triethylen-Glycol-Dimethacrylat), EDMA (Ethylen-Glycol-Dimethacrylat) und DEGDMA (Diethylen-Glycol-Dimethacrylat) zugesetzt. Als Comonomer kommt TEGDMA eine besondere Rolle zu, da es die Viskosität des Werkstoffs herabsetzt und so die Komposite fließfähig macht, bzw. ein höherer Anteil an Füllkörpern realisiert werden kann [HELLWIG et al., 2006; SCHMALZ et al., 2005].

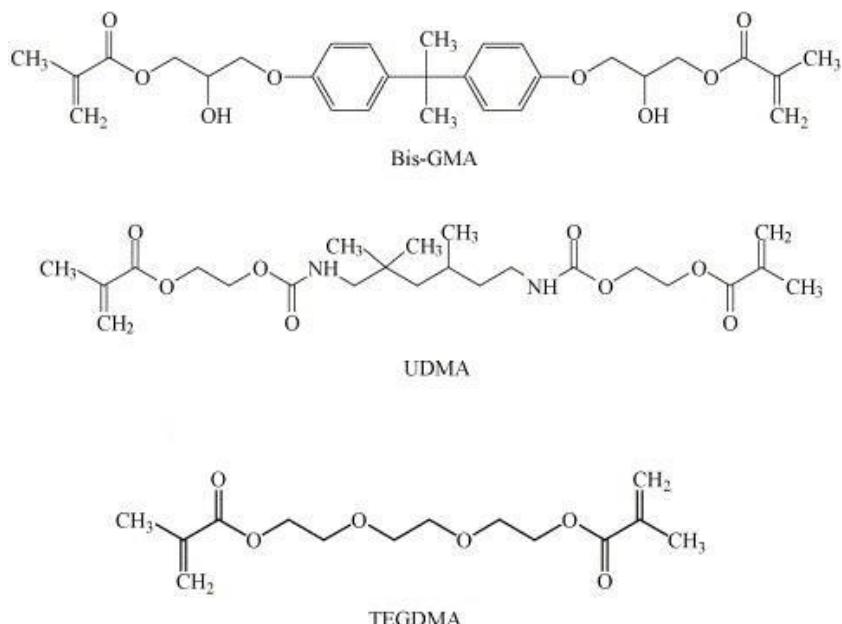


Abbildung 2.4: Chemische Strukturen der Komposit-Monomere Bis-GMA und UDMA, sowie des Comonomers TEGDMA [aus BARSZCZEWA-KRYBAREK, 2009]

Neben den Monomeren und Comonomern finden sich verschiedene Additive wie Fotoinitiatoren (z. B. Camperchinon), Koinitiatoren (z. B. DMABEE, DEAEMA), Inhibitoren (z. B. BHT (Abb. 2.5)), UV-Absorber, Fotostabilisatoren und Pigmente [FERRACANE, 1995; PHILLIPS, 1991; SPAHL et al., 1998].

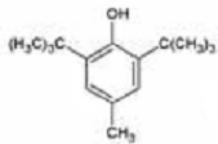


Abbildung 2.5: Chemische Struktur des Inhibitors BHT (Butylhydroxytoluol) [aus WESELER und BAST, 2009]

2.4.2 Füllkörper

Als Füllkörper werden hauptsächlich fein gemahlene Quarze, Borsilikate, Lithium-Aluminium-Silikat-Gläser und hochdisperse, amorphes Siliciumdioxid (SiO₂) verwendet. Durch Zusatz spezieller Gläser, die z. B. Barium, Strontium oder Zink enthalten, wird eine Radioopazität erreicht [HOSODA et al., 1990; SÖDERHOLM et al., 1990; WILLEMS et al., 1993]. Die Größe der Füllkörperpartikel reicht von 8 bis 12 µm (Makrofüller, konventionelle Komposite), 0,007 bis 0,04 µm (Mikrofüller) bis zu 5 nm (Nanofüller). Bei Hybridkompositen werden meist Partikel der Größe 0,6 bis 1 µm verwendet, die mit Mikrofüllern bzw. Nanofüllern (Feinpartikelhybride) versetzt sind [HELLWIG et al., 2006; SCHMALZ et al., 2005]. Durch die Größe und Verteilung der Füllerpartikel werden im Wesentlichen die technischen Materialeigenschaften bestimmt. Der Anteil der Füller beträgt in der Regel 60 bis 70 Vol.-% bzw. 70 bis 85 Gew.-% [PHILLIPS, 1991; WILLEMS et al., 1993]. Um eine Verbindung der Füllkörper mit der Matrix zu gewährleisten, werden die Füllkörperpartikel mit Silanen vorbehandelt (Abb. 2.6). Dadurch werden die Partikel chemisch aktiviert und hydrophobiert. Dies ist notwendig, da die anorganischen Füllkörper im Gegensatz zur hydrophoben, organischen Matrix hydrophile Eigenschaften aufweisen [HELLWIG et al., 2006; KARABELA et al., 2008].

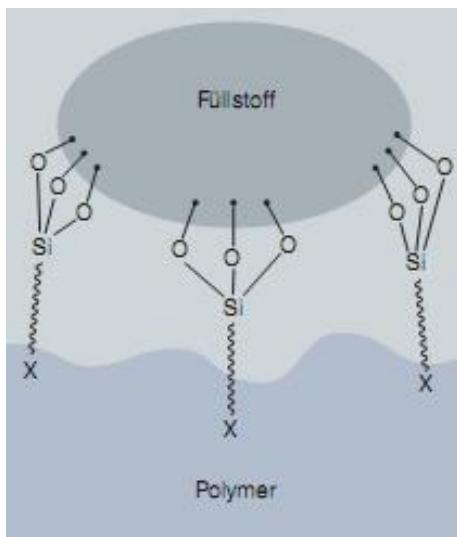


Abbildung 2.6: Verbindung von Füllkörperpartikeln mit einer polymeren Matrix mittels Silanisierung [aus GENIOSIL® - Organofunktionelle Silane, WACKER Chemie AG, Produktinformation, 2008]

Das üblicherweise in dentalen Kompositen verwendete Silan ist das 3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan (MPS; Abb. 2.7), ein bifunktionelles Molekül, welches sich mit seinen Methoxysilan-Gruppen mit den Füllkörpern verbindet und mit der funktionellen Methacrylat-Gruppe eine Verbindung zu den Basis- und Comonomeren herstellt [HELLWIG et al., 2006; MATINLINNA, 2004; VAN NOORT, 2002].

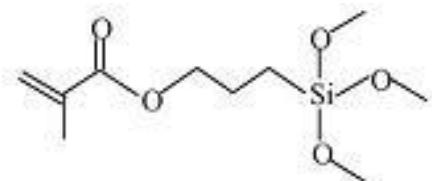


Abbildung 2.7: Chemische Struktur von 3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan (MPS) [aus KARABELA et al., 2008]

Die Verbindung ist generell suffizient, kann aber, aufgrund des ionischen Charakters der Bindung, durch Hydrolyse angegriffen werden [ANTONUCCI et al., 2005]. Um eine effektive Verbindung zu erhalten, muss die Menge des adsorbierten Silans auf dem Füllkörper optimal sein [KARMAKER et al., 2007]. Die Auswahl der richtigen Menge wird unter Berücksichtigung der physikalischen Eigenschaften getroffen, weniger im Hinblick auf die Stabilität gegen Hydrolyse [KARMAKER et al., 2007]. Eine unvollständige Bedeckung, aber auch ein Überschuss an Silan kann zu einer Verschlechterung der Verbindung und der mechanischen Eigenschaften führen [ISHIDA et al., 1978; MOHSEN et al., 1995].

3 Fragestellung

Ziel dieser Arbeit war die Quantifizierung der bakteriellen Adhäsion an ausgewählten Kompositen mit und ohne vorherige Speichelkonditionierung *in vitro*. Es wurden insgesamt 13 unterschiedliche Kompositmaterialien getestet. Die Kunststoffe basierten alle auf der gleichen Grundmatrix und unterschieden sich nur im Material der Füllkörper, der Vorbehandlung der Füllkörper und der Füllkörpergröße. Als Referenzmaterial wurde die Grundmatrix ohne Füllkörper verwendet.

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, inwieweit sich das Material der Füllkörper, deren Vorbehandlung und Größe auf die Adhäsion von Bakterien auswirkt. Zudem wurden die Auswirkungen der Füllkörpersilanisierung und des Zusatzes des Inhibitors BHT, sowie der Einfluss eines Pellikels auf die bakterielle Adhäsion untersucht. Zusätzlich wurde die Anlagerung von *S. mutans* mit der von *S. sanguinis* verglichen. Ferner wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der bakteriellen Adhäsion und der Oberflächenrauigkeit bzw. der freien Oberflächenenergie besteht.

4 Material und Methode

4.1 Material

4.1.1 Bakterienkulturen

In je zwei, der insgesamt vier durchgeführten Versuchen, wurden *S. mutans* und *S. sanguinis* verwendet. *S. mutans* (DSMZ-Nr.: 20523; Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Deutschland) und *S. sanguinis* (DSMZ-Nr.: 20068) wurden in *Tripticase Soy Yeast Extract Medium* (DSMZ-Medium Nr. 92; bestehend aus 30 g tryptischer Soja-Nährbouillion (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, USA) und 3 g Hefeextrakt (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), gelöst in einem Liter *Aqua dest.*) kultiviert.

4.1.2 Künstlicher Speichel

Für jeden Bakterienstamm (*S. sanguinis* und *S. mutans*) wurde ein Anlagerungsversuch mit Vorbehandlung der Probekörper mit künstlichem Speichel durchgeführt. Hierbei wurde eine künstliche Proteinmischung verwendet, bestehend aus Muzin (850 mg/l PBS), Lysozym (10 µg/ml PBS), Alpha-Amylase (1 mg/ml PBS) und Albumin (40 µg/ml PBS). Mittels Vakuum-einmalfiltrationsgeräten (Vacuflo PV 050/3, Fa. Schleicher & Schuell Microscience GmbH, Dassel, Deutschland) und Filtern der Porengröße 0,45 µm und 0,2 µm wurde diese Mischung steril filtriert. Die Lagerung erfolgte bei -20° C. Am Tag vor dem Versuch wurde die Proteinlösung aufgetaut und im Kühlschrank bei 4° C gelagert.

4.1.3 Testmaterialien

Insgesamt wurden 13 verschiedene experimentelle Kompositmaterialien getestet (Tab. 4.1, Abb. 4.1). Die Kunststoffe unterschieden sich anhand des Materials der Füllkörper, deren Vorbehandlung und ihrer Größe. Die Größe der Füllkörper wird in deren mittleren spezifischen Oberfläche angegeben. Sie wird meist nach dem Verfahren von Brunauer, Emmet und Teller bestimmt und erfasst die gesamte Oberfläche der Füllkörper [GYSAU, 2007]. Kleine Füllkörper weisen eine hohe spezifische Oberfläche auf, große Füllkörper dementsprechend niedrige spezifische Oberflächen. Die Füllkörperkonzentration liegt jeweils bei 30 Gew.-%.

Tabelle 4.1: Testmaterialien

	Material	Füllkörper	mittlere spezifische Oberfläche (BET)
1	Ox 50 0% BHT	SiO ₂ , nicht silanisiert	50 m ² /g
2	Ox 50 1% BHT	SiO ₂ , nicht silanisiert	50 m ² /g
3	R709 0% BHT	SiO ₂ , silanisiert	40 m ² /g
4	R709 1% BHT	SiO ₂ , silanisiert	40 m ² /g
5	DT4 0% BHT	SiO ₂ , silanisiert	150 m ² /g
6	DT4 1% BHT	SiO ₂ , silanisiert	150 m ² /g
7	GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT	Ba-Al-B-Silikat, silanisiert	13 m ² /g
8	GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT	Ba-Al-B-Silikat, silanisiert	13 m ² /g
9	K6 silanisiert 0% BHT	Ba-Al-B-Silikat, silanisiert	0,6 m ² /g
10	K6 silanisiert 1% BHT	Ba-Al-B-Silikat, silanisiert	0,6 m ² /g
11	K6 nicht silanisiert 0% BHT	Ba-Al-B-Silikat, nicht silanisiert	0,6 m ² /g
12	K6 nicht silanisiert 1% BHT	Ba-Al-B-Silikat, nicht silanisiert	0,6 m ² /g
13	Grundmasse	-----	-----

Als Monomer für die Grundmatrix wurde Bis-GMA, sowie das Comonomer TEGDMA verwendet. Jeder Komposit wurde in zwei leicht unterschiedlichen Zusammensetzungen getestet, zum Einen mit 0 Gew.-% (Gruppe A, Tab. 4.2) des Initiators Butylhydroxytoluol (BHT), zum Anderen mit 1 Gew.-% BHT (Gruppe B). Die Grundmasse ohne BHT wurde als Referenzmaterial untersucht.

Daraus ergab sich folgende Zusammensetzung der Testmaterialien:

Tabelle 4.2: Zusammensetzung der Testmaterialien

	A	B
BHT (Inhibitor)	0 Gew.-%	1 Gew.-%
TEGDMA	49,8 Gew.-%	49,3 Gew.-%
Bis-GMA	49,7 Gew.-%	49,2 Gew.-%
Camperchinon (Initiator)	0,2 Gew.-%	0,2 Gew.-%
Amin (Katalysator)	0,3 Gew.-%	0,3 Gew.-%

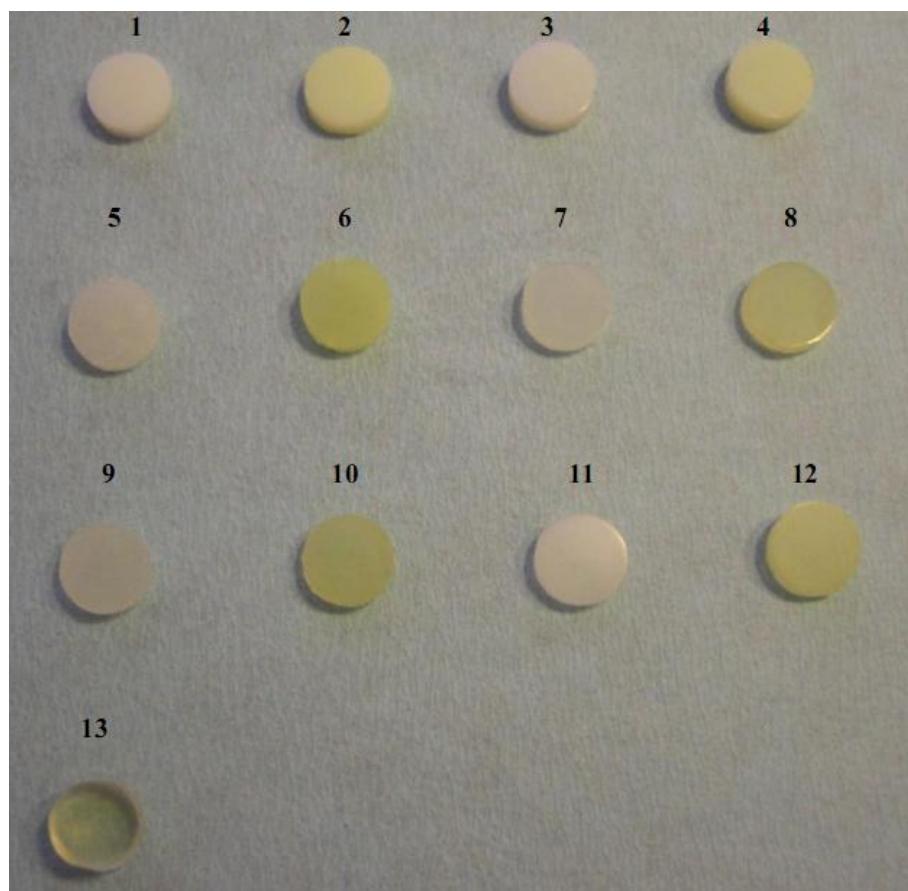


Abbildung 4.1: Probekörper der getesteten Materialien (Nummerierung gemäß Tab. 4.1)

4.2 Methode

4.2.1 Versuchsvorbereitung

4.2.1.1 Herstellung der Probekörper

Die Probekörper der Grundmasse wurden von der Fa. VOCO (Cuxhaven, Deutschland) in einem speziellen Verfahren hergestellt. Es standen 20 Probekörper zur Verfügung.

Für die restlichen zwölf Kunststoffe wurden jeweils 22 Probekörper angefertigt. Zur Herstellung wurden Formen aus Dubliersilikon (Deguform, DeguDent, Hanau, Deutschland; Abb. 4.2) verwendet, um eine standardisierte Größe und eine weitgehend glatte Oberfläche zu erhalten. Es wurden runde, plättchenförmige Proben mit einem Durchmesser von 10 mm und einer Dicke von ca. 4 mm hergestellt. Die Kunststoffe wurden gründlich aufgerührt, damit sich die am Boden abgesetzten Füllkörper gleichmäßig im Kunststoff verteilen. Mit einem Spatel wurden die Kunststoffe in die Mulden der Silikonform eingefüllt und anschließend 40 sec mit einer Polymerisationslampe (Elipar II, 3M ESPE AG, Seefeld, Deutschland) ausgehärtet. Nachdem die Proben aus der Form genommen worden sind, wurden sie auch von der anderen Seite 40 sec ausgehärtet.

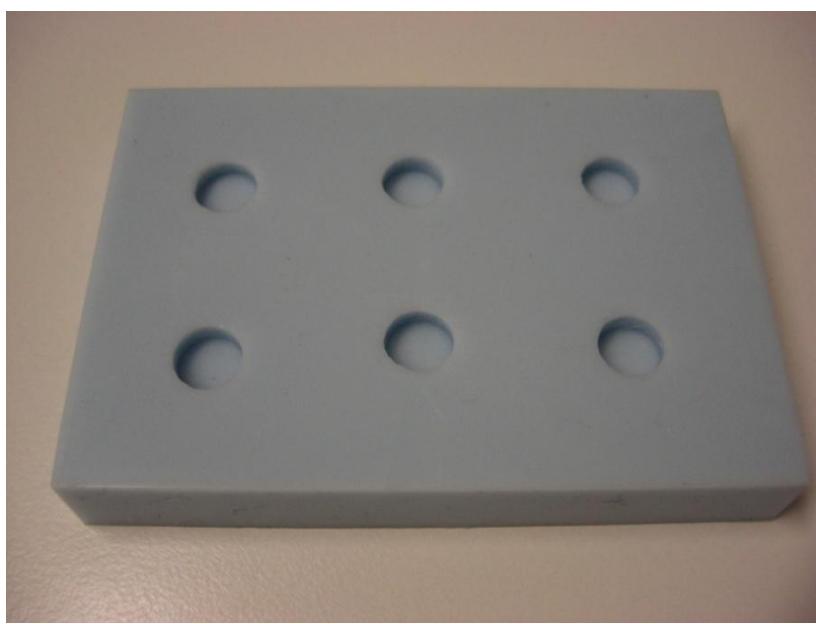


Abbildung 4.2: Form aus Dubliersilikon zur Probekörperherstellung

Die Sauerstoffinhibitionsschicht auf der Kunststoffoberfläche wurde mit 70%igem Propanol entfernt. Anschließend wurden die Probekörper mit einem Poliergerät (Buehler-Metaserv, Buehler GmbH, Düsseldorf, Deutschland) und Planschleifscheiben (Buehler GmbH, Düsseldorf, Deutschland) poliert. Die Polierung wurde so lange durchgeführt, bis die Sauerstoffinhibitionsschicht vollständig entfernt war. Die Poliergeschwindigkeit betrug 1000 rpm und die Polierzeit 10 Minuten.

dorf, Deutschland) aufsteigender Körnung von 1000 über 2000, bis zu einer Körnung von 4000 unter ständiger Wässerung poliert. Bis zur Versuchsdurchführung wurden die Probekörper in einem Zentrifugenröhren (Greiner Bio-One, Kremsmünster, Österreich) trocken gelagert. Da die Kunststoffproben für insgesamt vier Versuche verwendet wurden, wurden diese nach jedem Versuch mit 70%igem Propanol gereinigt und erneut bei einer Körnung von 4000 poliert. Dadurch wurde für jeden Versuch dieselbe Ausgangssituation geschaffen.

4.2.1.2 Oberflächeneigenschaften der Prüfkörper

4.2.1.2.1 Oberflächenrauigkeit (R_A)

Nach Politur der Probekörper, wurden jeweils fünf Proben pro Testmaterial einer Rauigkeitsbestimmung unterzogen. Dabei wurde pro Probekörper an drei verschiedenen Stellen gemessen. Dies geschah mittels eines Rauigkeitsmessgeräts (Tastschlittenprinzip; Perthometer S6P, Feinprüf Perthen GmbH; Göttingen, Deutschland; Abb.4.3). Die mittlere Rauigkeit (R_A) ist das arithmetische Mittel des Oberflächenprofils der Testkörper. Oberflächen unter einem Wert von $0,2 \mu\text{m}$ wurden im vorliegenden Versuchsaufbau als glatt betrachtet. Unter diesem Grenzwert wird kein direkter Einfluss der Rauigkeit auf die bakterielle Adhäsion erwartet [BOLLEN et al., 1997].



Abbildung 4.3: Perthometer S6P

4.2.1.2.2 Freie Oberflächenenergie (surface free energy, SFE)

Die freie Oberflächenenergie (SFE) der Kunststoffe wurde mit Hilfe eines Kontaktwinkel-messgeräts (Erma, Tokyo, Japan) unter Verwendung dreier unterschiedlicher Flüssigkeiten bestimmt. Es wurden hierbei entionisiertes Wasser, Ethylenglycol (Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland) und Dijodmethan (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) verwendet. Mit einer automatischen Pipette (Mircolap p, Hamilton Bondaduz, Bonaduz, Schweiz) wurden je 2 μ l der entsprechenden Flüssigkeit auf die Probe pipettiert. Pro Material wurden jeweils zwei Tropfen auf fünf zufällig ausgewählten Probekörpern gemessen. Durch ein optisches System (Goniometer G1, ERNA, Tokyo, Japan) wurden die auf der Probe aufgebrachten Tropfen aufgezeichnet. Aus der Höhe und der Breite der Kontaktfläche wurde der Kontaktwinkel berechnet. Für jeden Tropfen wurden der rechte und der linke Kontaktwinkel gemessen. Aus den Kontaktwinkeln aller drei Flüssigkeiten wurde anschließend die SFE der Kunststoffproben nach der Methode von Owens, Wendt, Rabel und Kaeble berechnet [OWENS et al., 1969].

4.2.1.3 Kultivieren der Bakterien

4.2.1.3.1 Wochenkultur

Für die beiden, in den Versuchen verwendeten Kulturen, *S. mutans* (DSMZ-Nr.: 20523) und *S. sanguinis* (DSMZ-Nr.: 20068) wurden Wochenkulturen aus einer jeweiligen Gefrierkultur angelegt. Dazu wurden jeweils 25 ml *Tripticase Soy Yeast Extract Medium* (DSMZ-Medium Nr. 92) mit 25 μ l Bakterienkultur überimpft und anschließend über Nacht im Inkubator (Forma Orbital Shaker, Thermo Electron Corp., Marietta, OH, USA) bei 37° C angezüchtet. Die Inkubationszeit lag bei ca. 20 h, damit sich die Bakterien in einem optimalen Wachstumszustand befanden. Die Kulturen wurden wöchentlich überimpft und zusätzlich zwei Tage vor der Versuchsdurchführung.

4.2.1.3.2 Versuchskultur

Für einen Versuch wurde aus der jeweiligen Wochenkultur (*S. mutans*, *S. sanguinis*) am Tag vor der Bakterienanlagerung eine Versuchskultur angezüchtet. Dazu wurden in fünf Erlenmeyerkolben (Schott Duran, Mainz, Deutschland) jeweils 50 ml *Tripticase Soy Yeast Extract*

Medium mit 50 µl der Wochenkultur überimpft. Die überimpften Erlenmeyerkolben wurden über Nacht (ca. 20 h) bei 37° C inkubiert. Die Speedeinstellung für den Inkubator war 53.

Am Versuchstag wurden die Versuchskulturen aus den Erlenmeyerkolben in Zentrifugenröhrchen gefüllt. Von der Versuchskultur wurden ca. 5 ml entnommen, wovon der pH-Wert (Multi-Calimatic, Knick, Egelsbach, Deutschland) und die optische Dichte bestimmt wurden. Die Bestimmung der optischen Dichte erfolgte mit Hilfe eines Photometers (Genesys 10S, Thermo Spectronic, Rochester, NY, USA) bei einer Wellenlänge von 550 nm. Als Nullwert wurde das DSMZ-Medium Nr. 92 verwendet. Anschließend wurden die Versuchskulturen bei 18° C und 2300 Umdrehungen 5 min zentrifugiert (Hettich Rotixa P, Hettich Zentrifugen GmbH, Tuttlingen, Deutschland). Der Überstand der zentrifugierten Röhrchen wurde vorsichtig abgeschüttet und die übrig bleibenden Bakterienpellets wurden jeweils in ca. 30 ml PBS gelöst. Nach vollständigem Auflösen der Pellets, wurden die Suspensionen erneut zentrifugiert. Dieser Vorgang wurde insgesamt zwei Mal wiederholt und die Pellets anschließend erneut in ca. 20 ml PBS gelöst. Nun wurde mit den gewaschenen Bakterien die Wellplattenkultur, die zur Bakterienanlagerung verwendet wurde, hergestellt. Hierzu wurden in einem Becherglas mit Rührfisch unter ständigem Rühren durch einen Magnetrührer (MSC basic C, IKA Works Inc., Wilmington, NC, USA) die in PBS gelösten Bakterien solange mit PBS verdünnt, bis die Bakterienkultur eine optische Dichte von 0,3 besaß. Hierbei wurde PBS als Nullwert verwendet. Eine optische Dichte von 0,3 entspricht einer mikrobiellen Konzentration von $3,65 \times 10^8$ Zellen/mL [SATOU et al., 1988]. Von der Wellplattenkultur wurde ebenfalls der pH-Wert bestimmt.

4.2.1.4 Vorbereitung der Probekörper

4.2.1.4.1 Wasserlagerung

Eine Woche vor dem Versuch wurden je 15 Probekörper pro Material mit 70%igem Propanol gereinigt und in eine 24er Wellplatte (24 Well Test Plate, Sarstedt Inc., Newton, NC, USA) gegeben. In jedes Well wurde je 1 ml steriles *Aqua dest.* pipettiert. Dadurch wurde der Einfluss des Restmonomers oder anderer toxischer Inhaltsstoffe auf die Bakterien minimiert [HAHNEL et al., 2008]. Bis zum Versuch wurden die Wellplatten im Kühlschrank bei 4° C gelagert.

4.2.1.4.2 Einkleben in Wellplatten

Am Tag vor dem Versuch wurden die Probekörper aus der Wasserlagerung genommen. Sie wurden zunächst auf Küchenrolle gelegt und dort luftgetrocknet. Anschließend wurden die Probekörper mit Dubliersilikon (Degaform, DeguDent, Hanau, Deutschland) in konfektionierte 48er Wellplatten (48 Well Cell Culture Cluster, Corning Inc., Lowell, MA, USA) eingeklebt. Pro Wellplatte wurden drei Testmaterialien mit je 15 Probekörpern eingeklebt. Folglich standen für jeden Versuch vier Wellplatten mit je drei Materialien und eine Platte mit einem Materialen zur Verfügung. Von den 15 Proben waren drei Farbkontrollen (FK; PBS mit Resazurin), eine Bakterienkontrolle (BK; reine Bakteriensuspension) und eine Nullkontrolle (0K; reines PBS). Die Platten wurden beschriftet (Abb. 4.4) und 1 ml steriles *Aqua dest.* pro Well pipettiert. Bis zum Versuch wurden die Platten im Kühlschrank bei 4° C gelagert.

Nr. (1-13) Material							
		FK	FK	FK	BK	0K	X
Nr. (1-13) Material							
		FK	FK	FK	BK	0K	X
Nr. (1-13) Material							
		FK	FK	FK	BK	0K	X

Abbildung 4.4: Beschriftung 48er Wellplatte; FK = Farbkontrolle, BK = Bakterienkontrolle, 0K = Nullkontrolle, X = leeres Well

4.2.1.4.3 Eigenfluoreszenzmessung

Bevor Bakterien angelagert werden konnten, musste von den Probekörpern die Eigenfluoreszenz bestimmt werden. Hierzu wurde in jedes Well 1 ml PBS pipettiert und die Messung am Fluostar Optima (BMG LabTech, Offenburg, Deutschland; Abb. 4.5) vorgenommen. Die Eigenfluoreszenzmessung wurde mit den Gains 2400, 2600 und 2700 durchgeführt. Anschließend wurde das PBS wieder abgesaugt.

Am Fluostar Optima wurden folgende Einstellungen vorgenommen (Tab. 4.3):

Tabelle 4.3: Einstellungen Fluostar Optima

48er Wellplatten	
Selekt Protokoll	BadADH Rasaz 48konz
Mikrotiterplatte	Costar 3548 48
Gain	2400, 2600, 2700
Required value	15%
Emissionsfilter	590 - 610
Excitationsfilter	560
Well Scanning	6 mm, Orbital
Cycletime	1



Abbildung 4.5: Fluostar Optima

4.2.2 Versuchsdurchführung

Insgesamt wurden vier Versuche durchgeführt (Tab. 4.4). Davon wurden bei zwei Versuchen (*S. mutans* bzw. *S. sanguinis*) die Probekörper zunächst mit künstlichem Speichel inkubiert, um ein Pellicel zu erhalten. Bei den beiden anderen Versuchen erfolgte die Anlagerung von *S. mutans* bzw. *S. sanguinis* direkt auf der Oberfläche der Testmaterialien.

Tabelle 4.4: Durchgeführte Versuche

V 220	<i>S. mutans</i> ohne Speichel
V 221	<i>S. mutans</i> mit Speichel
V 222	<i>S. sanguinis</i> ohne Speichel
V 223	<i>S. sanguinis</i> mit Speichel

4.2.2.1 Anlagerung ohne Speichel

Für den Versuch wurde zunächst das sterile *Aqua dest.* von den Wellplatten abgesaugt. Zur Bakterienanlagerung wurde die hergestellte Wellplattenkultur mit der optischen Dichte von 0,3 verwendet. Die Wellplatten wurden wie folgt pipettiert:

Probe:	1 ml Wellplattenkultur + 15 µl Resazurin
Farbkontrolle (FK):	1 ml PBS + 15 µl Resazurin
Bakterienkontrolle (BK):	1 ml Wellplattenkultur
Nullkontrolle (0K):	1 ml PBS

Anschließend wurden die Wellplatten für 2,5 h bei 37° C in einer abgedunkelten Box inkubiert. Speedeinstellung des Inkubators war 53. Nach abgeschlossener Inkubation wurden die Wellplatten entnommen. Sie wurden nun vorsichtig zweimal mit PBS gewaschen. Hierzu wurde ein Winkelgestell verwendet, damit die angelagerten Bakterien nicht von der Kunststoffoberfläche gespült wurden. Danach wurde in jedes Well 1 ml PBS pipettiert und anschließend die Fluoreszenzmessung analog der Eigenfluoreszenzmessung am Fluorometer Fluostar Optima mit den Gains 2400, 2600 und 2700 durchgeführt.

4.2.2.2 Anlagerung mit Speichel

Bei den Versuchsbedingungen mit Speichel wurde nach Absaugen des sterilen *Aqua dest.* in jedes Well 1 ml des künstlichen Speichels pipettiert. Die Platten wurden anschließend in einer abgedunkelten Box für 2 h bei 37° C inkubiert. Die Speedeinstellung des Inkubators war 53. Nach abgeschlossener Inkubation wurde der künstliche Speichel abgesaugt. Der weitere Ablauf des Versuchs war entsprechend dem Vorgehen des Versuchs ohne vorherige Speichelanlagerung.

4.2.2.3 Rasterelektronenmikroskop

Für jedes getestete Material wurde die Probe mit der geringsten und der höchsten Anlagerung von Bakterien entnommen und für eine Betrachtung im Rasterelektronenmikroskop (Stereoscan 240, Cambridge Instruments, Cambridge, UK; Abb. 4.6) vorbereitet. Die Proben wurden mit einem Klebstoff (Conductive Carbon Cement, Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland) auf den Probeträgern (Alu-Stubs, Provac AG, Oestrich-Winkel, Deutschland) befestigt. Nachdem der Klebstoff ausgetrocknet ist, wurden die Proben 6 min bei 30 mV mit 99,99%igem Gold besputtert (BAL-TEC AG, Walluf, Deutschland). Von jeder entnommenen Probe wurden Aufnahmen in den Vergrößerungen 1740-fach und 3800-fach angefertigt. Zusätzlich wurde für jedes Material ein Probekörper gebrochen und Aufnahmen der Bruchfläche in den Vergrößerungen 600-fach und 3000-fach angefertigt.



Abbildung 4.6: Rasterelektronenmikroskop Stereoscan 240

4.3 Auswertung und Statistik

4.3.1 Auswertung

Die Auswertung und Quantifizierung der adhärierten Bakterien erfolgte mit Hilfe einer Fluoreszenzfärbung mit dem Farbstoff Resazurin (0,75 g/mL *Aqua dest*; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Dies ist eine schnelle, präzise und reproduzierbare Technik, die bakterielle Adhäsion quantitativ zu bestimmen [HAHNEL et al., 2008; GAINES et al., 2003; GRIVET et al., 1999; LOGAN et al., 1998; ROSENTRITT et al., 2008]. Bei der einfach durchzuführenden Resazurin-Reduktion Methode, die auch Alamar-Blue-Analyse genannt wird, wird der blaue, nicht fluoreszierende Farbstoff Resazurin (maximale Absorption bei 605 nm), in den violetten, hoch fluoreszierenden Farbstoff Resorufin (maximale Absorption bei 573 nm) metabolisiert (Abb. 4.7) [FIELDS et al., 1993; NAKAYAMA et al., 1997; RISS et al., 2003]. Der genaue Ablauf dieser nicht toxischen Reduktion ist allerdings noch nicht bekannt. Es wird vermutet, dass es sich bei der Reduktion des Farbstoffs um eine intrazelluläre Enzymaktivität oder eine chemische Reaktion im Medium handelt [DE FRIES et al., 1995; O'BRIEN et al., 2000].

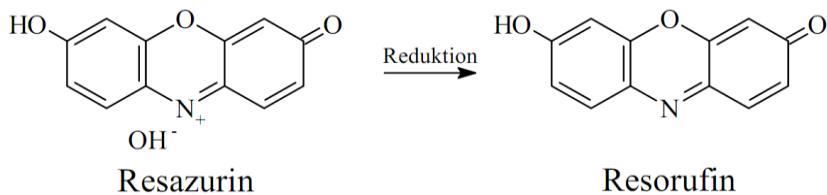


Abbildung 4.7: Reduktion von Resazurin zu Resorufin in lebenden Zellen [aus TWIGG, 1945]

Die Menge des fluoreszierenden Markers kann anschließend mit dem Mikroskop oder einem automatischen Detektor bestimmt werden. Dabei besteht eine Korrelation von Resazurin zu fluoreszierendem Resorufin und der Menge an lebenden Mikroorganismen [DE FRIES et al., 1995; NAKAYAMA et al., 1997; O'BRIEN et al., 2000; VOYTIK-HARBIN et al., 1998]. Anhand der Differenz der Fluoreszenz zur Eigenfluoreszenz kann quantitativ die Menge an gelagerter Bakterien bestimmt werden. Eine hohe relative Fluoreszenzintensität bedeutet eine hohe Adhäsion von *Streptokokken*. Als Referenzwerte dienten die Bakterienkontrolle (Bakterien ohne Resazurin), Farbkontrolle (PBS mit Resazurin) und die Nullkontrolle (PBS ohne Resazurin). Mit diesem Verfahren wurde die Besiedelung der verschiedenen Kunststoffe analysiert. Des Weiteren wurden die Ergebnisse für die Anlagerungsversuche mit und ohne Speichel miteinander verglichen.

4.3.2 Statistik

Für die statistische Auswertung und graphische Darstellung der Versuche wurden die Programme SPSS für Windows (Version 16.0, SPSS Inc., Chicago, USA) und das Tabellenkalkulationsprogramm Excel (Version 2003, Microsoft Cooperation, Redmond, USA) verwendet. Die statistische Analyse zur Bestimmung von Unterschieden zwischen den Materialien erfolgte mit dem Mann-Whitney U-Test auf dem Signifikanzniveau $\alpha = .05$. Zur graphischen Darstellung der zentralen Tendenz wurden die Medianwerte, sowie 25%- und 75%-Perzentile ermittelt. Zur Bestimmung von Korrelationen zwischen den Variablen relative Fluoreszenz, Oberflächenrauigkeit und freie Oberflächenenergie wurden die Spearman'schen Rangkorrelationskoeffizienten berechnet. Für die Berechnungen wurden die Fluoreszenzwerte der Messung mit Gain 2600 verwendet.

5 Ergebnisse

5.1 Rauigkeit

Tabelle 5.1 zeigt die Ergebnisse der Messung der Oberflächenrauigkeiten für alle Materialien. Dargestellt sind die Medianwerte, sowie die 25%- und 75%-Perzentile. Alle 13 Materialien zeigen eine mediane Rauigkeit zwischen 0,040 und 0,080 μm .

Die Ergebnisse der Korrelationsbestimmung der Oberflächenrauigkeit zur bakteriellen Adhäsion in den vier Versuchsbedingungen zeigen eine geringe Korrelation (Tab. 5.2). Für die Bedingung *S. mutans* mit Pellikel ist die Korrelation leicht höher als für die anderen drei Bedingungen. Die Zusammenhänge zwischen Bakterienadhäsion und Oberflächenrauigkeit weisen in der vorliegenden Versuchsanordnung für keinen Versuch eine statistische Signifikanz auf.

Tabelle 5.1: Oberflächenrauigkeit (in μm , $n = 15$; Medianwerte, 25%- und 75%-Perzentile)

	Material	n	Perzentile		
			25	50	75
1	Ox 50 0% BHT	15	0,060	0,080	0,080
2	Ox 50 1% BHT	15	0,040	0,080	0,080
3	R709 0% BHT	15	0,040	0,040	0,080
4	R709 1% BHT	15	0,040	0,040	0,080
5	DT4 0% BHT	15	0,040	0,080	0,080
6	DT4 1% BHT	15	0,040	0,080	0,080
7	GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT	15	0,040	0,040	0,040
8	GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT	15	0,040	0,040	0,040
9	K6 silanisiert 0% BHT	15	0,040	0,080	0,080
10	K6 silanisiert 1% BHT	15	0,060	0,080	0,080
11	K6 nicht silanisiert 0% BHT	15	0,080	0,080	0,095
12	K6 nicht silanisiert 1% BHT	15	0,080	0,080	0,095
13	Grundmasse	15	0,040	0,040	0,040

Tabelle 5.2: Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizienten als Zusammenhangsmaß für die bakterielle Adhäsion der vier Versuchsbedingungen und die Oberflächenrauigkeit R_A (± 0.800 bis ± 1.000 = starke Korrelation; ± 0.500 bis ± 0.800 = mäßige Korrelation; -0.500 bis $+0.500$ = geringe Korrelation)

	Oberflächenrauigkeit
<i>S. mutans</i> ohne Pellikel	0.106
<i>S. mutans</i> mit Pellikel	0.270
<i>S. sanguinis</i> ohne Pellikel	0.108
<i>S. sanguinis</i> mit Pellikel	0.162

5.2 Freie Oberflächenenergie (surface free energy, SFE)

Die mediane freie Oberflächenenergie (SFE) der Materialien liegt zwischen 33,00 mJ/cm² (R709 0% BHT) und maximal 46,58 mJ/cm² (GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT) (Tab. 5.3). Die Materialien Ox 50 0% BHT, R709 0% BHT und DT4 0% bzw. 1% BHT besitzen eine vergleichsweise niedrige SFE (33,00 bis 36,89 mJ/cm²). GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT zeigt mit 46,58 mJ/cm² eine hohe SFE. Die restlichen acht Materialien liegen auf einem mittleren Niveau zwischen 38,01 und 42,07 mJ/cm².

Für alle Versuchsbedingungen ist eine geringe Korrelation der bakteriellen Adhäsion und der SFE festzustellen (Tab. 5.4). Bei der Anlagerung von *S. mutans* mit Pellikel ist die Korrelation im Vergleich zu den drei anderen Bedingungen höher. Es besteht für keinen Versuch eine statistisch bedeutsame Korrelation.

Tabelle 5.3: Oberflächenenergien (SFE; in mJ/cm²; Mittelwerte und Standardabweichungen (SD))

	Material	SFE	SD
1	Ox 50 0% BHT	36,89	2,44
2	Ox 50 1% BHT	39,58	1,81
3	R709 0% BHT	33,00	2,45
4	R709 1% BHT	40,07	2,18
5	DT4 0% BHT	33,31	2,07
6	DT4 1% BHT	35,21	1,52
7	GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT	40,75	1,75
8	GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT	46,58	1,74
9	K6 silanisiert 0% BHT	39,40	1,93
10	K6 silanisiert 1% BHT	39,31	1,35
11	K6 nicht silanisiert 0% BHT	42,07	0,98
12	K6 nicht silanisiert 1% BHT	38,01	1,34
13	Grundmasse	40,36	1,29

Tabelle 5.4: Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizienten als Zusammenhangsmaß für die bakterielle Adhäsion der vier Versuchsbedingungen und die SFE (± 0.800 bis ± 1.000 = starke Korrelation; ± 0.500 bis ± 0.800 = mäßige Korrelation; -0.500 bis $+0.500$ = geringe Korrelation)

	SFE
<i>S. mutans</i> ohne Pellikel	0.051
<i>S. mutans</i> mit Pellikel	0.368
<i>S. sanguinis</i> ohne Pellikel	0.039
<i>S. sanguinis</i> mit Pellikel	0.100

5.3 Bakterielle Adhäsion

5.3.1 Vergleich aller Materialien

5.3.1.1 *Streptococcus mutans*

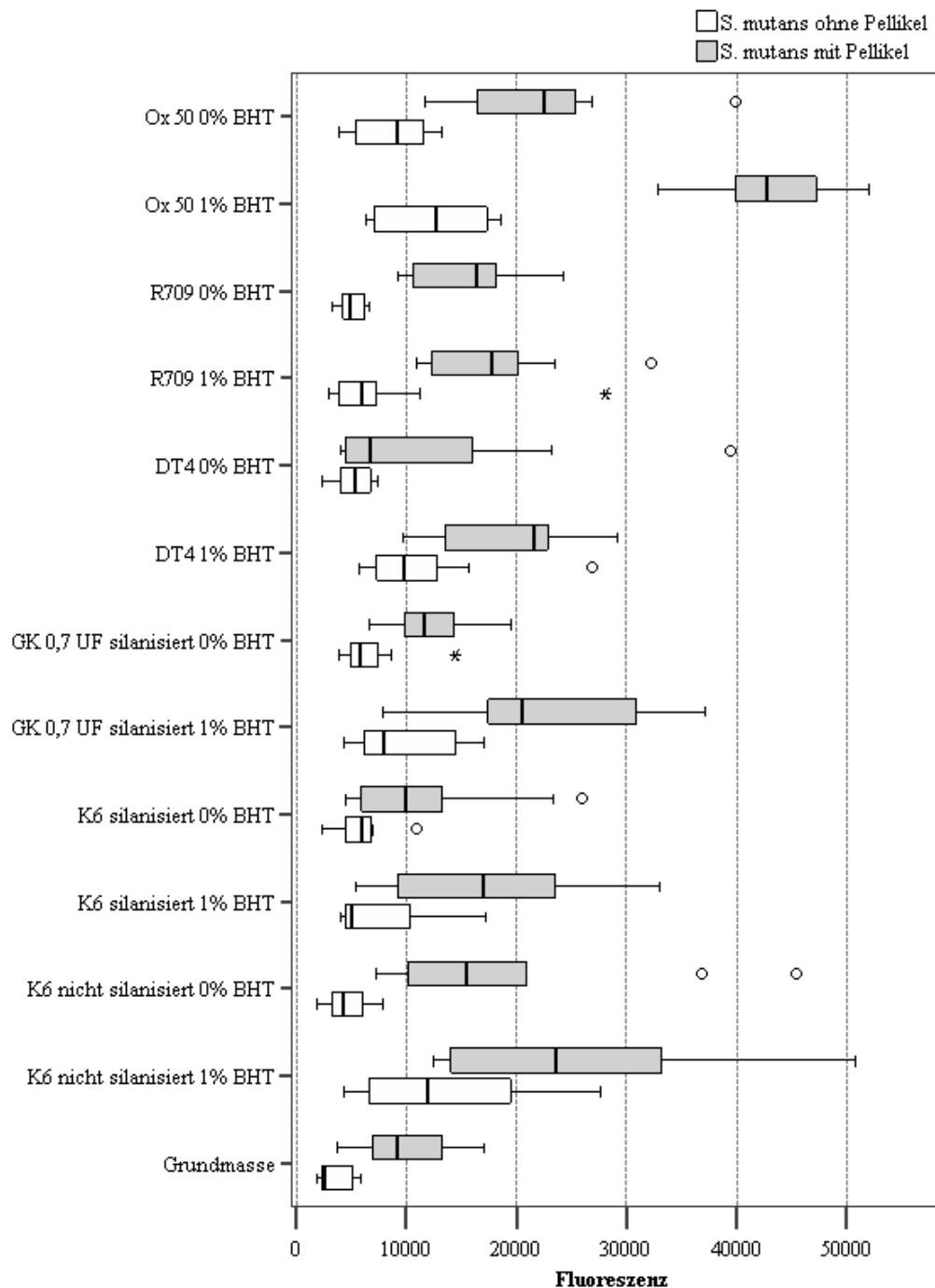


Abbildung 5.1: Boxplots; relative Fluoreszenzintensitäten für die Anlagerung von *S. mutans* ohne und mit Pellicel (○ = Ausreißer; * = Extremwerte)

5.3.1.1.1 Adhäsion von *Streptococcus mutans* ohne Pellicel

Bei Betrachtung der bakteriellen Adhäsion von *S. mutans* ohne Pellicel lassen sich die Kunststoffe in drei Gruppen mit unterschiedlichen Niveaus der Bakterienanlagerung einteilen (Abb. 5.1, Tab. 5.5). Den niedrigsten medianen Fluoreszenzwert findet man bei der Grundmasse (2586). Mittlere mediane Anlagerungswerte (4232 bis 6125,5) finden sich für die Materialien R709 0% bzw. 1% BHT, DT4 0% BHT, GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT, sowie K6 silanisiert 0% bzw. 1% BHT und K6 nicht silanisiert 0% BHT. Zwischen diesen sieben Materialien ist kein signifikanter Unterschied festzustellen (Tab. 5.6). Sie zeigen eine signifikant höhere Anlagerung als die Grundmasse. Einzige Ausnahme ist hier der Kunststoff K6 nicht silanisiert 0% BHT, dessen Unterschied zur Grundmasse nicht signifikant wird. Auf einem höheren medianen Anlagerungsniveau (7997,5 bis 12652) liegen Ox 50 0% bzw. 1% BHT, DT4 1% BHT, sowie GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT und K6 nicht silanisiert 1% BHT. Zwischen diesen fünf Kunststoffen ist kein signifikanter Unterschied in der bakteriellen Anlagerung auszumachen. Die vermehrte Anlagerung im Vergleich zu den Kunststoffen der beiden niedrigeren Niveaus wird für Ox 50 1% BHT zu allen acht Materialien signifikant. DT4 1% BHT zeigt bis auf K6 silanisiert 1% BHT signifikante Unterschiede, K6 nicht silanisiert 1% BHT ausgenommen R709 1% und K6 silanisiert 1% BHT. Für GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT wird der Unterschied bis auf R709 1% BHT, GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT und K6 silanisiert 1% BHT signifikant. Bei Ox 50 0% BHT lässt sich ein signifikanter Unterschied zu R709 0% BHT, DT4 0% BHT, sowie zu K6 nicht silanisiert 0% BHT und zur Grundmasse feststellen.

Tabelle 5.5: relative Fluoreszenzintensitäten für die Anlagerung von *S. mutans* ohne Pellikel (n = 10; Medianwerte, 25%- und 75%- Perzentile)

	Material	n	Perzentile		
			25	50	75
1	Ox 50 0% BHT	10	5370	9165,5	11523
2	Ox 50 1% BHT	10	7100	12652	17307
3	R709 0% BHT	10	4235	4961	6212
4	R709 1% BHT	10	3939	6009,5	7320
5	DT4 0% BHT	10	4000	5364,5	6734
6	DT4 1% BHT	10	7311	9850	12765
7	GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT	10	5031	5850,5	7347
8	GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT	10	6145	7997,5	14506
9	K6 silanisiert 0% BHT	10	4503	5904,5	6881
10	K6 silanisiert 1% BHT	10	4572	5041	10282
11	K6 nicht silanisiert 0% BHT	10	3313	4232	6054
12	K6 nicht silanisiert 1% BHT	10	6654	11905,5	19468
13	Grundmasse	10	2363	2586	5103

Tabelle 5.6: statistische Auswertung (Mann-Whitney U-Test; $\alpha = .05$; $n = 10$) für die Adhäsion von *S. mutans* ohne Pellicel

Material	Material											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 Ox 50 0% BHT	X	.123	.011*	.190	.029*	.529	.315	.684	.075	.247	.011*	.190
2 Ox 50 1% BHT	X	.000*	.023*	.000*	.481	.007*	.165	.001*	.011*	.000*	.971	.000*
3 R709 0% BHT	X	.436	.631	.000*	.105	.004*	.280	.353	.393	.001*	.029*	
4 R709 1% BHT	X	.796	.035*	.529	.105	.912	.684	.190	.052	.005*		
5 DT4 0% BHT		X	.000*	.315	.007*	.796	.481	.353	.004*	.023*		
6 DT4 1% BHT			X	.023*	.481	.002*	.052	.000*	.684	.000*		
7 GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT				X	.123	.529	.684	.063	.029*	.002*		
8 GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT					X	.035*	.190	.002*	.315	.000*		
9 K6 silanisiert 0% BHT						X	.912	.123	.009*	.011*		
10 K6 silanisiert 1% BHT							X	.075	.052	.015*		
11 K6 nicht silanisiert 0% BHT								X	.000*	.143		
12 K6 nicht silanisiert 1% BHT									X	.000*		
13 Grundmasse										X		

* $p < .05$

5.3.1.1.2 Adhäsion von *Streptococcus mutans* mit Pellikel

Bei vorhandenem Pellikel kann man die Anlagerung in drei Levels einteilen (Abb. 5.1, Tab. 5.7). Die geringste mediane Anlagerung (6659,5 bis 11651) ist bei DT4 0% BHT, GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT, K6 silanisiert 0% BHT, sowie für die Grundmasse zu beobachten. Zwischen diesen vier Kunststoffen findet man keinen signifikanten Unterschied der bakteriellen Adhäsion (Tab. 5.8). Auf einem mittleren Niveau (15408,5 bis 23567) findet man die Materialien Ox 50 0% BHT, R709 0% bzw. 1% BHT, DT4 1% BHT, GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT, sowie K6 silanisiert 1% BHT und K6 nicht silanisiert 0% bzw. 1% BHT. In der Gruppe dieser acht Materialien kann man für R709 0% BHT verglichen mit Ox 50 0% BHT einen signifikanten Unterschied der Adhäsion beobachten. Im Vergleich zu den vier Kunststoffen mit niedriger Adhäsion findet man für fünf der acht Kunststoffe (Ox 50 0% BHT, R709 1% BHT, DT4 1% BHT, GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT und K6 nicht silanisiert 1% BHT) einen signifikanten Unterschied zu allen vier Materialien. Bei den Kunststoffen R709 0% BHT, K6 silanisiert 1% BHT und K6 nicht silanisiert 0% BHT findet sich eine signifikant erhöhte Adhäsion im Vergleich zur Grundmasse. Der höchste mediane Wert der bakteriellen Anlagerung findet sich für den Kunststoff Ox 50 1% BHT (42663). Diese hohe Anlagerung ist im Vergleich zu allen anderen zwölf Materialien statistisch bedeutsam.

Tabelle 5.7: relative Fluoreszenzintensitäten für die Anlagerung von *S. mutans* mit Pellikel (n = 10; Medianwerte, 25%- und 75%- Perzentile)

	Material	n	Perzentile		
			25	50	75
1	Ox 50 0% BHT	10	16460	22532,5	25391
2	Ox 50 1% BHT	10	39881	42663	47215
3	R709 0% BHT	10	10686	16445	18164
4	R709 1% BHT	10	12271	17826	20206
5	DT4 0% BHT	10	4521	6659,5	16016
6	DT4 1% BHT	10	13542	21596	22879
7	GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT	10	9921	11651	14317
8	GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT	10	17447	20587	30859
9	K6 silanisiert 0% BHT	10	5933	9906,5	13289
10	K6 silanisiert 1% BHT	10	9253	16993,5	23446
11	K6 nicht silanisiert 0% BHT	10	10199	15408,5	20838
12	K6 nicht silanisiert 1% BHT	10	14049	23567	33185
13	Grundmasse	10	6953	9136,5	13178

Tabelle 5.8: statistische Auswertung (Mann-Whitney U-Test; $\alpha = .05$; $n = 10$) für die Adhäsion von *S. mutans* mit Pellicel

Material	Material											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 Ox 50 0% BHT	X	.000*	.035*	.165	.011*	.481	.001*	1.000	.009*	.190	.123	.853
2 Ox 50 1% BHT	X	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.019*	.000*
3 R709 0% BHT	X	.436	.089	.105	.168	.052	.089	.853	1.000	.105	.105	.005*
4 R709 1% BHT	X	.035*	.436	.023*	.247	.035*	.684	.529	.529	.165	.002*	
5 DT4 0% BHT		X	.035*	.280	.019*	.436	.105	.089	.089	.011*	.739	
6 DT4 1% BHT			X	.007*	.631	.023*	.436	.436	.315	.315	.001*	
7 GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT				X	.004*	.436	.315	.315	.280	.004*	.218	
8 GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT					X	.011*	.315	.315	.280	.004*	.218	
9 K6 silanisiert 0% BHT						X	.165	.143	.003*	.003*	.853	
10 K6 silanisiert 1% BHT							X	.971	.143	.043*		
11 K6 nicht silanisiert 0% BHT								X	.190	.043*		
12 K6 nicht silanisiert 1% BHT									X	.001*		
13 Grundmasse											X	

* $p < .05$

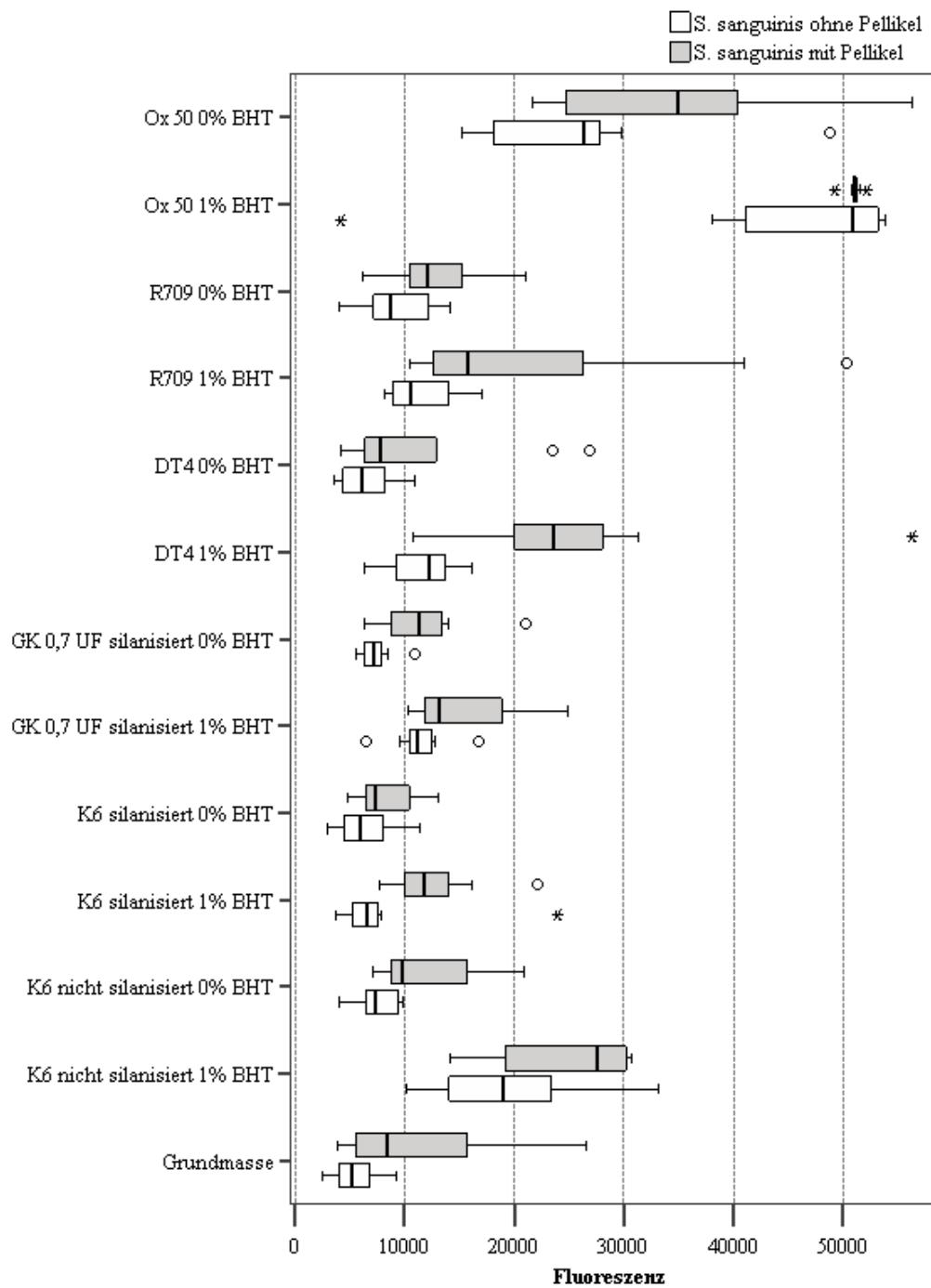
5.3.1.2 *Streptococcus sanguinis*

Abbildung 5.2: Boxplots; relative Fluoreszenzintensitäten für die Anlagerung von *S. sanguinis* ohne und mit Pellicel (○ = Ausreißer; * = Extremwerte)

5.3.1.2.1 Adhäsion von *Streptococcus sanguinis* ohne Pellikel

Die Anlagerung von *S. sanguinis* ohne Pellikel kann man in vier Anlagerungsniveaus unterteilen (Abb. 5.2, Tab. 5.9). Auf einem ähnlich niedrigen Niveau (5245,5 bis 7320,5) findet man die Materialien DT4 0% BHT, GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT, K6 silanisiert 0% bzw. 1% BHT, sowie K6 nicht silanisiert 0% BHT und die Grundmasse. Innerhalb dieser Gruppe zeigt sich nur für GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT im Vergleich mit der Grundmasse ein signifikanter Unterschied der bakteriellen Adhäsion (Tab. 5.10). Eine mittlere mediane Anlagerung (8683,5 bis 12180) zeigen die Kunststoffe R709 0% bzw. 1% BHT, sowie DT4 1% BHT und GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT. Untereinander ist für die vier Materialien dieser Gruppe kein signifikanter Unterschied zu beobachten. Im Vergleich zur Gruppe mit geringerer medianer Adhäsion kann man für drei Materialien (R709 1% BHT, DT4 1% BHT und GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT) einen signifikanten Unterschied zu allen Materialien feststellen. Für R709 0% BHT wird der Unterschied bis auf GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT und K6 nicht silanisiert 0% BHT signifikant. Eine hohe mediane Adhäsion (18982 bis 26409) lässt sich bei den Kunststoffen Ox 50 0% BHT und K6 nicht silanisiert 1% BHT beobachten. Zwischen den beiden Materialien findet sich kein signifikanter Unterschied. Zu den zehn Kunststoffen der beiden niedrigeren Niveaus zeigt sich für Ox 50 0% BHT und K6 nicht silanisiert 1% BHT ein signifikanter Unterschied der Anlagerung. Die signifikant höchste mediane Anlagerung (50895,5) im Vergleich zu allen anderen Kunststoffen findet sich für Ox 50 1% BHT.

Tabelle 5.9: relative Fluoreszenzintensitäten für die Anlagerung von *S. sanguinis* ohne Pellikel (n = 10; Medianwerte, 25%- und 75%- Perzentile)

	Material	n	Perzentile		
			25	50	75
1	Ox 50 0% BHT	10	18181	26409	27785
2	Ox 50 1% BHT	10	41102	50895,5	53154
3	R709 0% BHT	10	7185	8683,5	12190
4	R709 1% BHT	10	8918	10604	14068
5	DT4 0% BHT	10	4398	6146	8236
6	DT4 1% BHT	10	9266	12180	13684
7	GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT	10	6297	7224	7828
8	GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT	10	10417	11192,5	12426
9	K6 silanisiert 0% BHT	10	4431	6037,5	8032
10	K6 silanisiert 1% BHT	10	5270	6599	7647
11	K6 nicht silanisiert 0% BHT	10	6476	7320,5	9346
12	K6 nicht silanisiert 1% BHT	10	14065	18982	23369
13	Grundmasse	10	4034	5245,5	6836

Tabelle 5.10: statistische Auswertung (Mann-Whitney U-Test; $\alpha = .05$; $n = 10$) für die Adhäsion von *S. sanguinis* ohne Pellikel

Material	Material												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1 Ox 50 0% BHT	X	.004*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.123	.000*
2 Ox 50 1% BHT	X	.001*	.002*	.001*	.002*	.002*	.002*	.001*	.001*	.001*	.001*	.002*	.000*
3 R709 0% BHT	X	.165	.043*	.165	.075	.353	.029*	.043*	.190	.000*	.000*	.009*	
4 R709 1% BHT	X	.002*	.912	.000*	.912	.002*	.002*	.002*	.005*	.002*	.002*	.000*	
5 DT4 0% BHT	X	.003*	.315	.000*	.912	.971	.353	.000*	.436				
6 DT4 1% BHT	X	.005*	.796	.002*	.011*	.011*	.009*	.003*	.000*				
7 GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT	X	.002*	.280	.218	.853	.000*	.000*	.000*	.043*				
8 GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT	X	.002*	.005*	.005*	.001*	.001*	.002*	.002*	.000*				
9 K6 silanisiert 0% BHT	X	.796	.315	.000*	.529								
10 K6 silanisiert 1% BHT	X	.247	.001*	.393									
11 K6 nicht silanisiert 0% BHT	X	.000*	.052										
12 K6 nicht silanisiert 1% BHT	X	.000*	.000*										
13 Grundmasse	X												

* $p < .05$

5.3.1.2.2 Adhäsion von *Streptococcus sanguinis* mit Pellikel

Bei vorhandenem Pellikel kann man bei der Anlagerung von *S. sanguinis* drei unterschiedliche Niveaus der Anlagerung beobachten (Abb. 5.2, Tab. 5.11). Die geringsten medianen Werte (7273,5 bis 13110,5) zeigen sich für R709 0% BHT, DT4 0% BHT, GK 0,7 UF silanisiert 0% bzw. 1% BHT, K6 silanisiert 0% bzw. 1% BHT, sowie für K6 nicht silanisiert 0% BHT und für die Grundmasse. Innerhalb dieser acht Kunststoffe findet man für K6 silanisiert 0% BHT eine signifikant niedrigere Anlagerung im Vergleich zu R709 0% BHT, GK 0,7 UF silanisiert 0% bzw. 1% BHT, K6 silanisiert 1% BHT und K6 nicht silanisiert 0% BHT (Tab. 5.12). Zwischen den anderen sieben Materialien zeigen sich keine signifikanten Unterschiede. Auf einem höheren Anlagerungsniveau (15816,5 bis 34864,5) findet man vier Materialien (Ox 50 0% BHT, R709 1% BHT, DT4 1% BHT und K6 nicht silanisiert 1% BHT). In dieser Gruppe findet man einen signifikanten Unterschied der Adhäsion bei Ox 50 0% BHT im Vergleich zu R709 1% BHT. Im Vergleich mit den acht Materialien geringerer Intensitäten zeigen sich für Ox 50 0% BHT, DT4 1% BHT und K6 nicht silanisiert 1% BHT signifikante Unterschiede der bakteriellen Adhäsion. Bei R709 1% BHT wird der Unterschied ausgenommen R709 0% BHT und GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT signifikant. Das signifikant höchste Anlagerungsniveau (51126,5) im Vergleich zu allen anderen Materialien kann man für Ox 50 1% BHT beobachten.

Tabelle 5.11: relative Fluoreszenzintensitäten für die Anlagerung von *S. sanguinis* mit Pellikel (n = 10; Medianwerte, 25%- und 75%- Perzentile)

	Material	n	Perzentile		
			25	50	75
1	Ox 50 0% BHT	10	24722	34864,5	40328
2	Ox 50 1% BHT	10	50916	51126,5	51196
3	R709 0% BHT	10	10549	12092	15184
4	R709 1% BHT	10	12666	15816,5	26311
5	DT4 0% BHT	10	6386	7840	12877
6	DT4 1% BHT	10	20024	23512,5	28045
7	GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT	10	8814	11333	13368
8	GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT	10	11838	13110,5	18849
9	K6 silanisiert 0% BHT	10	6506	7273,5	10413
10	K6 silanisiert 1% BHT	10	9986	11818,5	14045
11	K6 nicht silanisiert 0% BHT	10	8801	9766,5	15683
12	K6 nicht silanisiert 1% BHT	10	19147	27639,5	30188
13	Grundmasse	10	5630	8360	15698

Tabelle 5.12: statistische Auswertung (Mann-Whitney U-Test; $\alpha = .05$; $n = 10$) für die Adhäsion von *S. sanguinis* mit Pellikei

Material	Material												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1 Ox 50 0% BHT	X	.002*	.000*	.029*	.000*	.052	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.052	.000*
2 Ox 50 1% BHT	X	.000*	.000*	.000*	.000*	.002*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*
3 R709 0% BHT	X	.075	.315	.001*	.481	.315	.015*	.796	.393	.393	.000*	.280	
4 R709 1% BHT	X	.029*	.143	.015*	.247	.000*	.035*	.035*	.035*	.035*	.123	.035*	
5 DT4 0% BHT	X	.004*	.353	.075	.739	.315	.280	.001*	.001*	.001*	.001*	.853	
6 DT4 1% BHT	X	.001*	.019*	.000*	.000*	.001*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.004*	
7 GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT	X	.089	.089	.035*	.684	.971	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.393	
8 GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT	X	.002*	.190	.190	.190	.123	.002*	.002*	.002*	.002*	.002*	.123	
9 K6 silanisiert 0% BHT	X	.009*	.009*	.009*	.009*	.009*	.035*	.035*	.035*	.035*	.035*	.631	
10 K6 silanisiert 1% BHT	X	.579	.579	.579	.579	.579	.579	.579	.579	.579	.579	.579	
11 K6 nicht silanisiert 0% BHT	X	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	
12 K6 nicht silanisiert 1% BHT	X	.002*	.002*	.002*	.002*	.002*	.002*	.002*	.002*	.002*	.002*	.002*	
13 Grundmasse	X												

* $p < .05$

5.3.2 Auswirkungen der Silanisierung der Füllkörper

Bei Betrachtung der Auswirkung der Füllkörpersilanisierung zeigt sich für K6 0% BHT bei Anlagerung von *S. mutans* ohne Pellikel eine tendenziell höhere mediane Adhäsion an den silanisierten Füllkörpern (Abb. 5.3). Die Unterschiede in der bakteriellen Adhäsion weisen keine statistische Signifikanz auf (Tab. 5.13). Bei den übrigen sieben Vergleichen kann ein erhöhtes Anlagerungsniveau an den nicht silanisierten Füllkörpern beobachtet werden. Der Unterschied bei K6 0% BHT wird für *S. sanguinis* mit Pellikel signifikant, bei K6 1% BHT für *S. sanguinis* mit und ohne Pellikel.

Tabelle 5.13: statistische Auswertung (Mann-Whitney U-Test; $\alpha = .05$; $n = 10$) für die Auswirkung der Silanisierung der Füllkörper auf die bakterielle Adhäsion

	<i>S. mutans</i> ohne Pellikel	<i>S. mutans</i> mit Pellikel	<i>S. sanguinis</i> ohne Pellikel	<i>S. sanguinis</i> mit Pellikel
K6 0% BHT silanisiert vs. nicht silanisiert	.123	.143	.315	.035*
K6 1% BHT silanisiert vs. nicht silanisiert	.052	.143	.001*	.000*

* $p < .05$

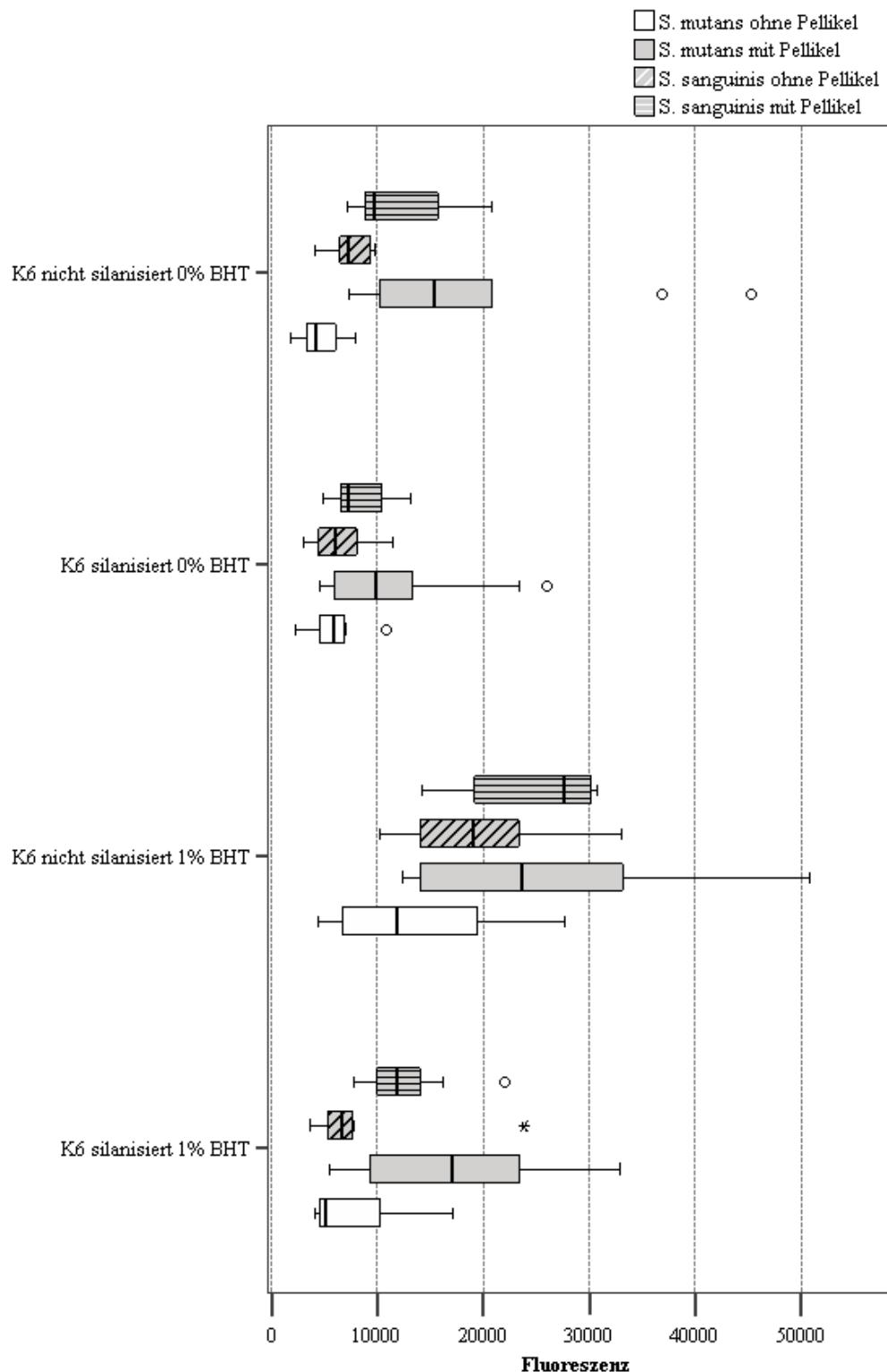


Abbildung 5.3: Boxplots; relative Fluoreszenzintensitäten für Kunststoffe mit silanisierten und nicht silanisierten Füllkörpern (○ = Ausreißer; * = Extremwerte)

5.3.3 Auswirkungen von BHT-Zusatz

Bei Materialien mit 1% BHT-Zusatz zeigt sich ein tendenziell höheres Anlagerungsniveau von Bakterien, im Vergleich zum identischen Kunststoff ohne Zusatz des Inhibitors. Ausnahme ist der Kunststoff K6 silanisiert, welcher bei Anlagerung von *S. mutans* ohne Pellikel eine geringere, nicht signifikante mediane Bakterienanlagerung bei BHT-Zusatz aufweist (Abb. 5.4, Tab. 5.14). Der Kunststoff DT4 zeigt bei allen vier Versuchsbedingungen eine erhöhte, statistisch bedeutsame bakterielle mediane Adhäsion bei Zusatz von 1% BHT. Für Ox 50 wird bis auf *S. mutans* ohne Pellikel die erhöhte Anlagerung bei BHT-Zusatz signifikant. Der Kunststoff GK 0,7 UF silanisiert zeigt signifikante Unterschiede im Fall der Adhäsion von *S. mutans* mit Pellikel und *S. sanguinis* ohne Pellikel. Der Unterschied bei K6 silanisiert wird bei *S. sanguinis* mit Pellikel signifikant, wohingegen K6 nicht silanisiert bis auf *S. mutans* mit Pellikel für alle Bedingungen einen signifikanten Unterschied aufweist. R709 zeigt keine statistisch bedeutsamen Unterschiede der Adhäsion zwischen 0 bzw. 1% BHT.

Tabelle 5.14: statistische Auswertung (Mann-Whitney U-Test; $\alpha = .05$; $n = 10$) für die Auswirkung von BHT-Zusatz (0% bzw. 1% BHT) auf die bakterielle Adhäsion

	<i>S. mutans</i> ohne Pellikel	<i>S. mutans</i> mit Pellikel	<i>S. sanguinis</i> ohne Pellikel	<i>S. sanguinis</i> mit Pellikel
Ox 50 0% vs. 1% BHT	.123	.000*	.004*	.002*
R709 0% vs. 1% BHT	.436	.436	.165	.075
DT4 0% vs. 1% BHT	.000*	.035*	.003*	.004*
GK 0,7 UF silanisiert 0% vs. 1% BHT	.123	.004*	.002*	.089
K6 silanisiert 0% vs. 1% BHT	.912	.165	.796	.009*
K6 nicht silanisiert 0% vs. 1% BHT	.000*	.190	.000*	.000*

* $p < .05$

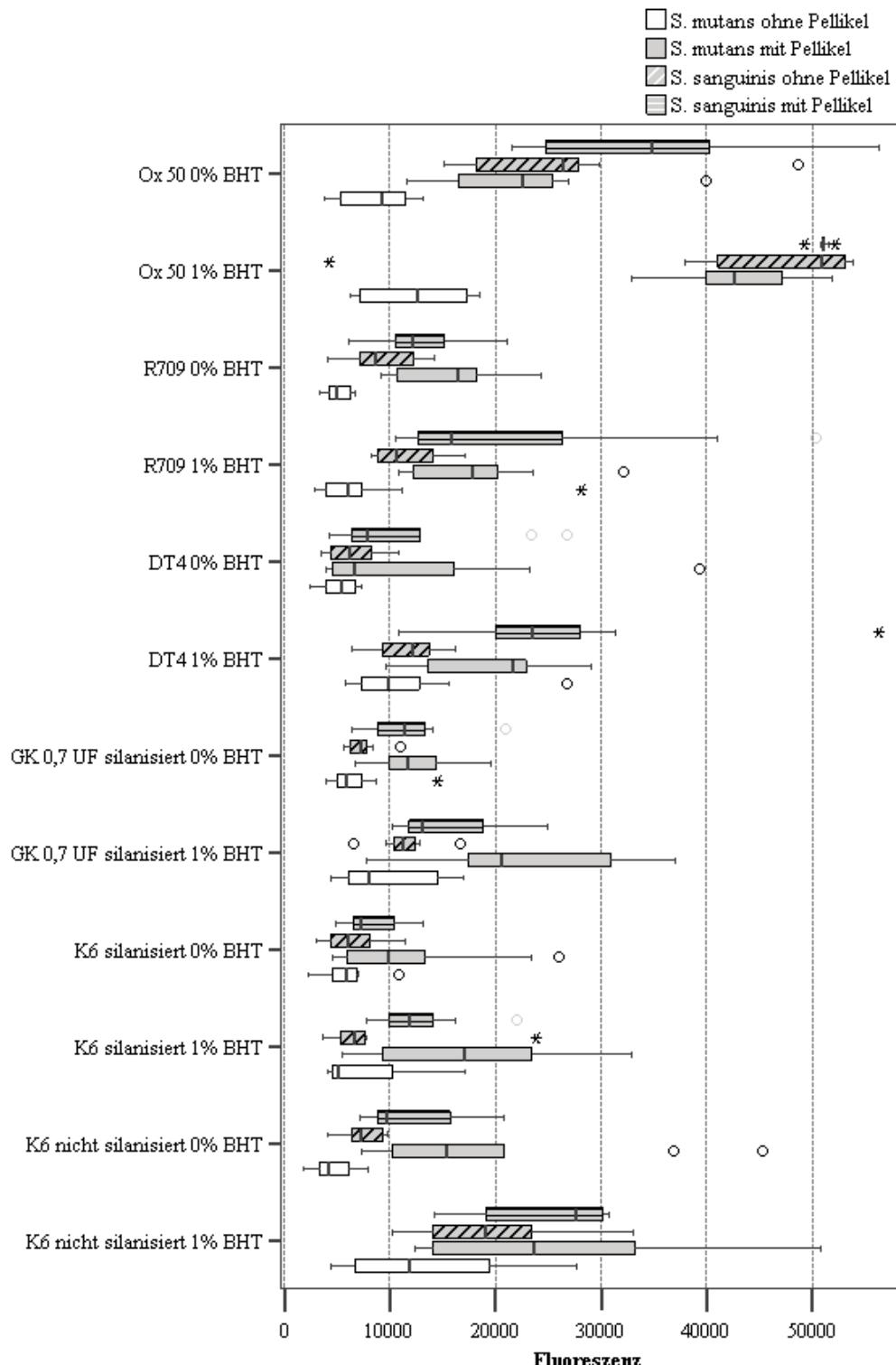


Abbildung 5.4: Boxplots; relative Fluoreszenzintensitäten für Kunststoffe ohne und mit BHT-Zusatz (○ = Ausreißer; * = Extremwerte)

5.3.4 Vergleich von *Streptococcus mutans* und *Streptococcus sanguinis*

Bei der Versuchsbedingung ohne Pellikel kann eine vermehrte Anlagerung von *S. sanguinis*, im Vergleich zu *S. mutans*, an allen 13 Materialien beobachtet werden (Abb. 5.5). Diese erhöhte Adhäsion von *S. sanguinis* wird bei den Kunststoffen Ox 50 0% bzw. 1% BHT, R709 0% bzw. 1% BHT, sowie für K6 nicht silanisiert 0% BHT und der Grundmasse statistisch signifikant (Tab. 5.15).

Bei Anlagerung der Bakterien mit vorhandenem Pellikel lässt sich eine erhöhte mediane Adhäsion von *S. sanguinis*, verglichen mit *S. mutans* für fünf Kunststoffe beobachten (Ox 50 0% bzw. 1% BHT, DT4 0% bzw. 1% BHT und K6 nicht silanisiert 1% BHT; Abb. 5.6). Hierbei wird der Unterschied für Ox 50 0% bzw. 1% BHT statistisch signifikant (Tab. 5.15). Die acht anderen Kunststoffe zeigen eine vermehrte Anlagerung von *S. mutans*, im Vergleich zu *S. sanguinis*, wobei dieses erhöhte Anlagerungsniveau nur bei GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT signifikant wird.

Tabelle 5.15: statistische Auswertung (Mann-Whitney U-Test; $\alpha = .05$; $n = 10$) für Vergleich von *S. mutans* und *S. sanguinis*

	Material	<i>S. mutans</i> vs. <i>S. sanguinis</i> ohne Pellikel	<i>S. mutans</i> vs. <i>S. sanguinis</i> mit Pellikel
1	Ox 50 0% BHT	.000*	.011*
2	Ox 50 1% BHT	.002*	.001*
3	R709 0% BHT	.001*	.247
4	R709 1% BHT	.007*	1.000
5	DT4 0% BHT	.315	.529
6	DT4 1% BHT	.436	.165
7	GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT	.165	.796
8	GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT	.190	.043*
9	K6 silanisiert 0% BHT	.739	.436
10	K6 silanisiert 1% BHT	.684	.353
11	K6 nicht silanisiert 0% BHT	.004*	.165
12	K6 nicht silanisiert 1% BHT	.105	.971
13	Grundmasse	.023*	.971

* $p < .05$

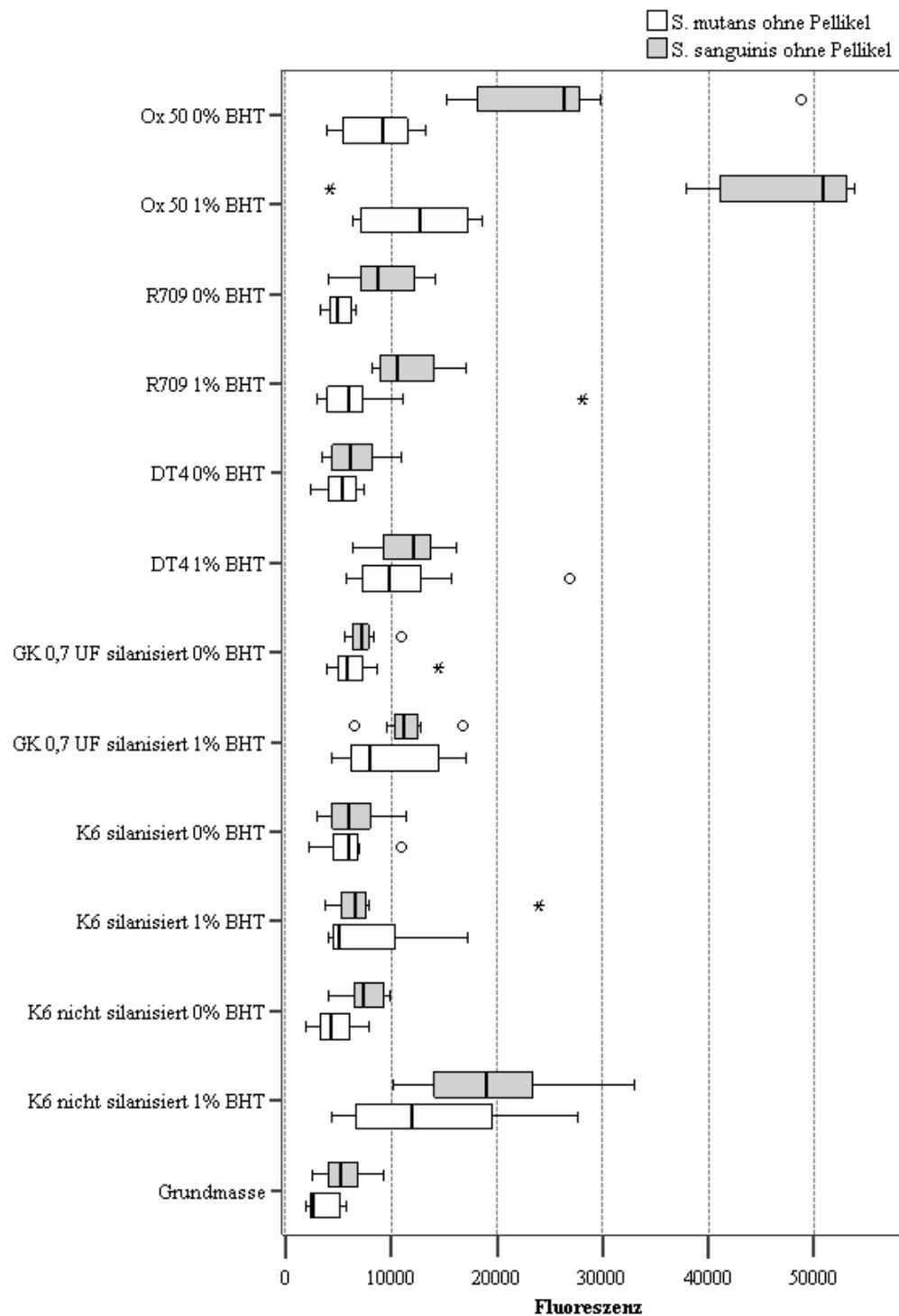


Abbildung 5.5: Boxplots; relative Fluoreszenzintensitäten für die Anlagerung von *S. mutans* und *S. sanguinis* ohne Pellikel (○ = Ausreißer; * = Extremwerte)

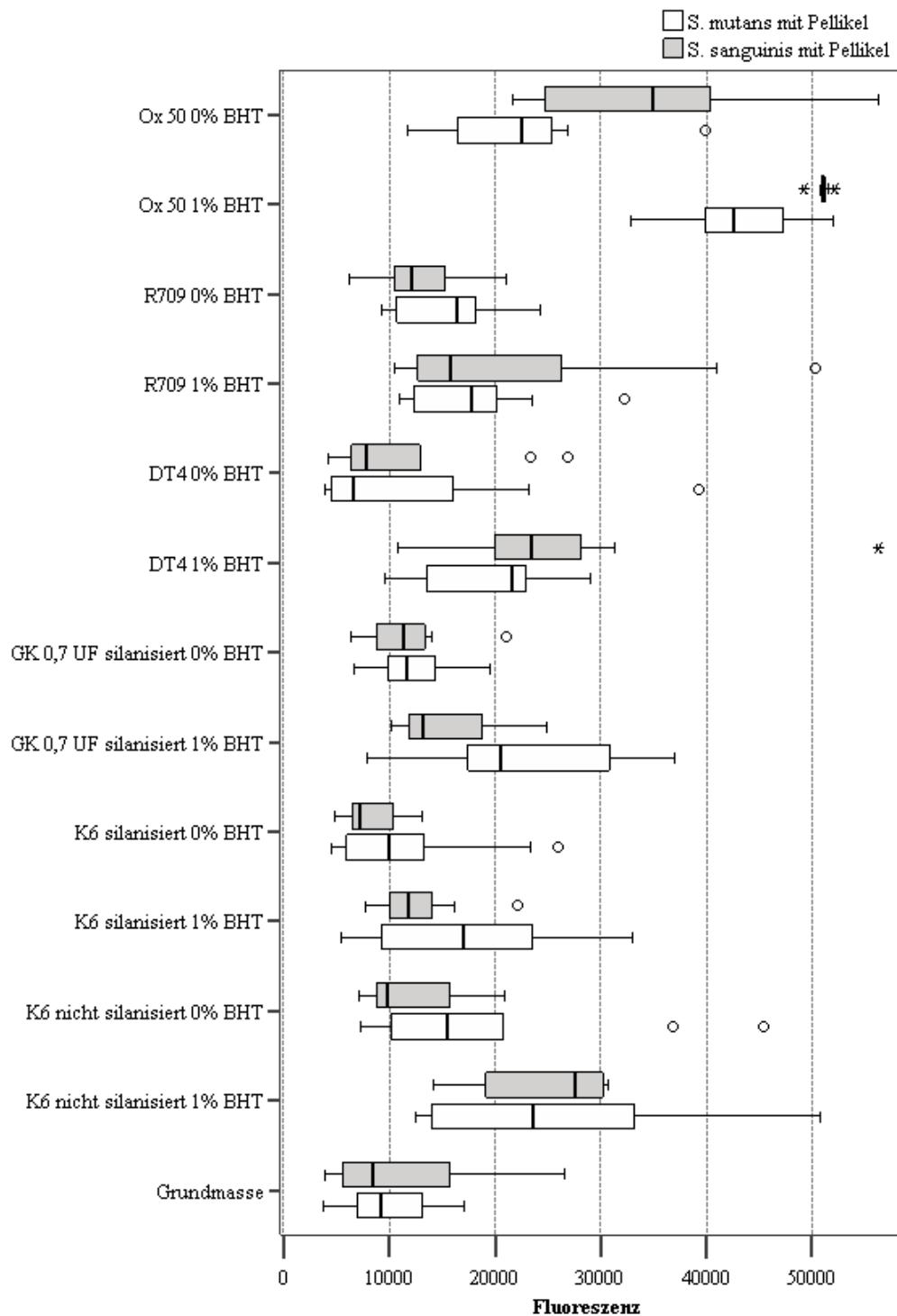


Abbildung 5.6: Boxplots; relative Fluoreszenzintensitäten für die Anlagerung von *S. mutans* und *S. sanguinis* mit Pellikel (○ = Ausreißer; * = Extremwerte)

5.3.5 Auswirkungen des Pellikels auf die bakterielle Adhäsion

Bei Betrachtung der Auswirkung des Pellikels auf die Adhäsion von *S. mutans* und *S. sanguinis* zeigt sich, sowohl für die Adhäsion von *S. mutans* als auch von *S. sanguinis*, eine tendenziell höhere mediane Anlagerung bei Vorhandensein eines Pellikels (Abb. 5.1, Abb. 5.2). Im Fall von *S. mutans* wird dieser Unterschied, ausgenommen DT4 0% BHT, für alle Materialien statistisch bedeutsam (Tab. 5.16). Bei Anlagerung von *S. sanguinis* zeigt sich bei Anlagerung mit Pellikel eine signifikant höhere Adhäsion bei sechs Materialien (R709 1% BHT, DT4 1% BHT, GK 0,7 UF silanisiert 0% bzw. 1% BHT, K6 silanisiert 1% BHT und K6 nicht silanisiert 0% BHT), im Vergleich zur Anlagerung ohne Pellikel.

Tabelle 5.16: statistische Auswertung (Mann-Whitney U-Test; $\alpha = .05$; $n = 10$) für Auswirkung des Pellikels auf die bakterielle Adhäsion

	Material	ohne Pellikel vs. Pellikel (<i>S. mutans</i>)	ohne Pellikel vs. Pellikel (<i>S. sanguinis</i>)
1	Ox 50 0% BHT	.000*	.123
2	Ox 50 1% BHT	.000*	1.000
3	R709 0% BHT	.000*	.105
4	R709 1% BHT	.002*	.019*
5	DT4 0% BHT	.280	.143
6	DT4 1% BHT	.009*	.000*
7	GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT	.005*	.002*
8	GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT	.000*	.023*
9	K6 silanisiert 0% BHT	.035*	.143
10	K6 silanisiert 1% BHT	.004*	.002*
11	K6 nicht silanisiert 0% BHT	.000*	.011*
12	K6 nicht silanisiert 1% BHT	.011*	.089
13	Grundmasse	.000*	.063

* $p < .05$

5.4 Zusammenhänge

Zwischen der bakteriellen Adhäsion unter den vier Versuchsbedingungen (*S. mutans* ohne Pellikel, *S. mutans* mit Pellikel, *S. sanguinis* ohne Pellikel, *S. sanguinis* mit Pellikel) und der Oberflächenrauigkeit lässt sich keine statistisch bedeutsame Korrelation feststellen. Ebenso kann zwischen der freien Oberflächenenergie und der Bakterienadhäsion für keine der Versuchsbedingungen ein statistisch signifikanter Zusammenhang beobachtet werden. Zwischen der Oberflächenrauigkeit und der freien Oberflächenenergie zeigt sich, mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,401 ebenfalls nur eine niedrige, statistisch nicht bedeutsame Korrelation.

Eine hohe mediane Anlagerung bei allen vier Versuchsbedingungen findet man bei Ox 50 0% bzw. 1% BHT und K6 nicht silanisiert 1% BHT. Ox 50 1% BHT zeigt hierbei bei drei Bedingungen die signifikant höchste Anlagerung, im Vergleich zu allen anderen Materialien. Auf einem mittleren Anlagerungsniveau liegen die Kunststoffe R709 1% BHT, DT4 1% BHT und GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT. Niedrige mediane Adhäsionswerte kann man für sechs Kunststoffe (R709 0% BHT, DT4 0% BHT, GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT, sowie K6 silanisiert 0% bzw. 1% BHT und K6 nicht silanisiert 1 % BHT) beobachten. Die niedrigste media-ne bakterielle Adhäsion, über alle vier Versuchsbedingungen gesehen, zeigt sich für die Grundmasse.

Bei den beiden Materialien (K6 0% BHT, K6 1% BHT), die jeweils silanisierte bzw. nicht silanisierte Füllkörper enthalten, kann man über alle vier Versuchsbedingungen gesehen, in sieben Vergleichen (87,5%) eine tendenziell höhere mediane bakterielle Adhäsion an den Kunststoffen mit nicht silanisierten Füllkörpern beobachten. Dieser Unterschied wird für drei der sieben Vergleiche (43%) statistisch bedeutsam. In einem Vergleich (12,5%) zeigt sich eine höhere, nicht signifikante Anlagerung von Bakterien an einem Kunststoff mit silanisierten Füllkörpern.

Sechs Materialien (Ox 50, R709, DT4, GK 0,7 UF silanisiert, K6 silanisiert, K6 nicht silanisiert) unterscheiden sich jeweils in der Menge (0% bzw. 1%) des Inhibitors BHT. Über alle vier Versuchsbedingungen gesehen, findet man in 23 Vergleichen (96%) eine tendenziell höhere mediane Adhäsion von Bakterien bei Zusatz von 1% BHT, im Vergleich zu 0% BHT. Dabei wird der Unterschied in 13 Vergleichen (57%) signifikant. Bei einem Vergleich (4%) kann eine höhere, statistisch nicht bedeutsame Anlagerung von Bakterien bei 0% BHT, verglichen mit 1% BHT, beobachtet werden.

Im Vergleich von *S. mutans* und *S. sanguinis* zeigt sich bei Anlagerung der Bakterien ohne Pellikel bei allen 13 Materialien eine tendenziell höhere mediane Adhäsion von *S. sanguinis*. Dieser Unterschied wird bei sechs der 13 Kunststoffe (46%) statistisch bedeutsam. Bei den Versuchsbedingungen mit Pellikel findet man eine tendenziell höhere mediane Anlagerung von *S. sanguinis*, verglichen mit *S. mutans*, bei fünf Materialien (38%). Für zwei der fünf Materialien (40%) wird dieser Unterschied signifikant. Für die restlichen acht Kunststoffe (62%) kann eine höhere mediane Adhäsion von *S. mutans* beobachtet werden, im Vergleich zu *S. sanguinis*. Die höhere Anlagerung von *S. mutans* zeigt für ein Material (12,5%) statistische Signifikanz.

Bei Betrachtung der Auswirkung des Pelliels kann für die Anlagerung von *S. mutans* mit vorhandenem Pellikel bei allen 13 Materialien eine tendenziell höhere mediane Adhäsion festgestellt werden, im Vergleich zur Anlagerung ohne Pellikel. Dieser Unterschied wird für 12 Materialien (92%) signifikant. Für die Anlagerung von *S. sanguinis* mit Pellikel zeigt sich ebenfalls für alle 13 Kunststoffe eine tendenziell höhere mediane Adhäsion, verglichen mit der Anlagerung ohne Pellikel. Dabei wird der Unterschied für sechs Kunststoffe (46%) statistisch bedeutsam.

6 Diskussion

6.1 Diskussion der Methoden

Bei der vorliegenden Untersuchung handelt es sich um eine einfache, reproduzierbare und präzise *in vitro* Studie [BÜRGERS et al., 2008]. Sie wurde verwendet, um die bakterielle Adhäsion auf Kunststoffen mit verschiedenen Füllkörpern zu untersuchen. Zum Vergleich der Adhäsion der Bakterien anhand der Materialeigenschaften wurde der Anlagerungsversuch ohne Pellikel durchgeführt, da es durch das Pellikel zu einer Homogenisierung der ursprünglichen Oberflächeneigenschaften kommt [HAHNEL et al., 2008]. Um die Auswirkungen des Pellikels auf die bakterielle Adhäsion zu untersuchen, wurden die Versuche zusätzlich mit vorangehender Pellikelbildung durchgeführt, da Bakterien *in vivo* an einer pellikelbeschichteten Oberfläche und nicht direkt an einer Oberfläche binden [HAHNEL et al., 2008]. Durch die angefertigten Rasterelektronenmikroskopaufnahmen kann eine direkte Adhäsion der Bakterien auf den Kunststoffoberflächen bestätigt werden.

6.1.1 Testmethode

Bei der Auswahl des Versuchsaufbaus musste zunächst entschieden werden, ob der Versuch *in vivo* oder *in vitro* durchgeführt werden soll. Dabei sollten möglichst realitätsnahe Versuchsbedingungen geschaffen werden, damit die Adhäsion der Bakterien im Versuch weitgehend der bakteriellen Adhäsion in der Mundhöhle entspricht. Der Vorteil der *in vivo* Versuchsaufbauten ist die Bildung eines Pellikels unter physiologischen Bedingungen. Nachteil dieses Vorgehens ist jedoch die schlechte Standardisierbarkeit aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung des Pellikels an verschiedenen Stellen in der Mundhöhle, sowie bei unterschiedlichen Speichelflussraten [CARLÉN et al., 1998; HANNIG et al., 1997; HOLSINGER et al., 2007; RANTONEN et al., 1998; VAUPEL, 2007]. Hannig et al.. konnten zeigen, dass die Quantität und Qualität des Pellikels unterschiedlich sind, wenn Proben aus gleichem Material bukkal oder lingual befestigt werden [HANNIG et al., 1999]. Dies kann, ebenso wie die an verschiedenen Stellen unterschiedlich stark ausgeprägten Scherkräfte und Selbstreinigungskräfte, zu einer unterschiedlich starken Pellikelbildung auf der Oberfläche der Prüfkörper

per führen [CARLÉN et al., 1998]. Die interindividuelle, wie auch die intraindividuelle Protein Zusammensetzung und -konzentration des Speichels zeigt starke Variationen [HOLSINGER et al., 2007; RUDNEY et al., 1991; VAUPEL, 2007]. Jedoch kann man den Unterschied zwischen *in vivo* und *in vitro* Studien nicht einfach auf die Anwesenheit von Speichel reduzieren, da eine Vielzahl von Faktoren, wie Koadhäsion mit anderen Bakterienspezies oder tägliche Nahrungsaufnahme, die Adhäsion von Bakterien in der Mundhöhle beeinflusst [AN et al., 1998; KATSIKOGIANNI et al., 2004].

Aufgrund der schwer kontrollierbaren Rahmenbedingungen bei einer *in vivo* Untersuchung wurde in der vorliegenden Untersuchung ein *in vitro* Versuchsaufbau vorgezogen. Auch die hohe Anzahl an Probekörpern (195 pro Versuch) sprach gegen eine *in vivo* Versuchsdurchführung. Bei Verwendung natürlichen Speichels unter *in vitro* Bedingungen können durchaus signifikante Unterschiede der Pellicelbildung, im Vergleich zur Bildung *in vivo* beobachtet werden [AL-HASHIMI et al., 1989; CARLÉN et al., 1998]. Daher wurde in der vorliegenden Untersuchung ein künstlicher Speichel verwendet, um Einflüsse der Protein Zusammensetzung und -konzentration des natürlichen Speichels zu beseitigen. Die verwendete Proteinmischung bestand aus PBS, das mit Mucin, α -Amylase, Albumin und Lysozym angereichert ist. Die Konzentration der Proteine war ähnlich der des Speichels [HAHNEL et al., 2009]. Um die Scherspannung der Mundhöhle zu imitieren, wurden die Versuche unter halbstatischen Inkubationsbedingungen in einem Schüttelinkubator durchgeführt [HAHNEL et al., 2008]. Eine Einwirkzeit des Speichels von zwei Stunden wurde gewählt, da sich nach dieser Zeit ein Gleichgewicht zwischen Proteinadsorption und -desorption einstellt und das Pellicel seine maximale Dicke erreicht hat [HANNIG et al., 1997; SKJORLAND et al., 1995].

6.1.2 Auswahl des Testkeims

Aufgrund der großen Anzahl verschiedener Mikroorganismen in der Mundhöhle war es notwendig einen repräsentativen Keim für die Untersuchungen auszuwählen. Viele Studien verwendeten bei Bakterienanlagerungsversuchen *Streptokokken* als Testkeime, da sie zu den sogenannten früh kolonisierenden Bakterien gehören [GAINES et al., 2003; WHITTAKER et al., 1996]. Durch ihre vielfältigen Möglichkeiten zur Interaktion mit Speichelbestandteilen und dem entstehenden Pellicel, dominieren sie mengenmäßig unter den initial bindenden Bakterien [LEE et al., 1996; NYVAD et al. 1990]. *S. mutans* und *S. sanguinis* wurden als repräsentative Mikroorganismen ausgewählt, da sie eine der häufigsten in der Mundhöhle sind

[KAWASHIMA et al., 2003]. Sie sind in der Lage, der antimikrobiellen Wirkung des Speichels standzuhalten [IACONO et al., 1980]. Vor allem *S. sanguinis* ist einer der ersten und wichtigsten Frühbesiedler [BECKER et al., 2002; LI et al., 2004; MARCHANT et al., 2001; ROSAN et al., 2000]. *S. mutans* wird in der frühen dentalen Plaque vorgefunden und als einer der wichtigsten Verursacher von Karies angesehen [GAINES et al., 2003; NYVAD et al., 1990; SELWITZ et al., 2007]. Bei der initialen Adhäsion von Bakterien handelt es sich um unspezifische Bindungen, wie hydrophobe Wechselwirkungen und van der Waals-Kräfte, wodurch von einer Adhäsion der beiden Spezies während der zweistündigen Inkubationszeit ausgegangen werden kann [AHN et al., 2003; LOGAN et al., 1998]. Aufgrund des Multispezies-Charakters des Biofilms [BRADSHAW et al., 1996; GILBERT et al., 1997] wird oft gefordert, Keimsuspensionen aus neun oder zehn verschiedenen Mikroorganismen zu verwenden. Diese sollten, wenn möglich, das in der Mundhöhle vorkommende Spektrum möglichst breit gefächert abdecken, um besser auf die *in vivo* Situation schließen zu können [DIBDIN et al., 1999; PRATTEN et al., 1998; WILSON et al., 1999]. Aufgrund der Komplexität der individuellen Bakterienoberfläche und der unvorhersehbaren Einflüsse verschiedener Bakterienstämme, dürfen die Ergebnisse jedoch nicht einfach auf die klinische *in vivo* Situation übertragen werden [BUSSCHER et al., 1986]. Für die Versuche wurde jeweils nur ein Stamm (Monokultur) von *S. mutans* bzw. *S. sanguinis* verwendet, um ein möglichst einfaches Modell mit hoher Reproduzierbarkeit zu erhalten. Ein weiterer wichtiger Aspekt für die Auswahl von *S. mutans* und *S. sanguinis* ist deren Fähigkeit über einen gewissen Zeitraum ohne zusätzliche Substratzufuhr zu wachsen [DE JONG et al., 1987].

6.1.3 Auswertmethoden

Fluoreszenztechniken haben in der letzten Zeit zu schnelleren und reproduzierbareren Quantifizierungsverfahren geführt, bei denen die potentiellen Messfehler minimiert wurden [AN et al., 1997; GAINES et al., 2003; LOGAN et al., 1998]. Die Resazurin-Reduktions-Methode, die in dieser Untersuchung angewendet wurde, ist ein gängiger Test für die quantitative Auswertung von lebenden Zellen *in vitro* [HAHNEL et al., 2008; ROSENTRITT et al., 2008]. Die Auswertung der Adhäsion über die Fluoreszenzfärbung Alamar-Blue bietet den Vorteil, dass nur lebende Zellen gemessen werden, da der Farbstoff Resazurin nur von metabolisch aktiven Bakterien zu Resorufin reduziert wird [NAKAYAMA et al., 1997; O'BRIEN et al., 2000; VOYTIK-HARBIN et al., 1998]. Dabei findet sich eine direkte Korrelation von Resa-

zurin zu fluoreszierendem Resorufin und der Anzahl lebender Zellen [DE FRIES et al., 1995; NAKAYAMA et al., 1997; O'BRIEN et al., 2000; VOYTIK-HARBIN et al., 1998]. Für metabolisch nicht mehr aktive Zellen kann nur eine geringe Fluoreszenz gegenüber metabolisch aktiven Zellen, unabhängig von der verwendeten Resazurinkonzentration, nachgewiesen werden [O'BRIEN et al., 2000]. Aufgrund des zweimaligen Waschvorgangs mit PBS nach Abschluss der Inkubation mit *S. mutans* bzw. *S. sanguinis* kann nicht ausgeschlossen werden, dass adhärierte Bakterien von der Oberfläche der Probekörper gelöst wurden, was in der anschließenden Quantifizierung eine geringere Menge von Mikroorganismen ergeben würde. Der Spülvorgang war jedoch notwendig, um einen Einfluss durch nicht adhärierte Bakterien auszuschließen.

6.2 Diskussion der untersuchten Materialien

Komposite zeigen, im Vergleich zu anderen dentalen Werkstoffen wie Metallen oder Keramiken, eine signifikant höhere Anlagerung von Bakterien [EICK et al., 2004; ROSENTRITT et al., 2008; ZALKIND et al., 1998]. Für einige Komposite konnten jedoch auch ähnlich niedrige Adhäsionswerte wie für Keramiken gefunden werden [ROSENTRITT et al., 2008]. Eick et al. fanden eine erhöhte Adhäsion von *S. mutans* an Kompositen, verglichen mit Keramiken [EICK et al., 2004], was darauf hindeutet, dass spezielle Monomere oder Füllkörper die bakterielle Adhäsion begünstigen [ROSENTRITT et al., 2008]. Für Komposite auf Bis-Acrylat-Basis konnten Bürgers et al. eine niedrige Anlagerung von Bakterien beobachten [BÜRGERS et al., 2007]. Für neuere Komposite, die auf Siloranen basieren, zeigt sich eine signifikant niedrigere Adhäsion von Bakterien, verglichen mit konventionellen Kompositen auf Methacrylatbasis [BÜRGERS et al., 2009]. Im Vergleich mit Glasionomerzementen zeigen Komposite auf Kunstharzbasis eine tendenziell erhöhte bakterielle Adhäsion [BÜRGERS et al., 2009].

Bei den untersuchten Materialien handelte es sich um experimentelle Kunststoffe mit unterschiedlichen Füllkörpern. Die Matrix bestand aus dem Basismonomer Bis-GMA und dem Comonomer TEGDMA, welches weit verbreitete Monomere in Kompositen sind [PEUTZFELDT, 1997]. Hansel et al. zeigten in ihren Untersuchungen, dass die Basismonomere Bis-GMA und UDMA keinen bzw. einen geringfügig wachstumshemmenden Einfluss auf die Bakterien besitzen [HANSEL et al., 1998]. Satou et al. fanden hingegen für das hydrophobe Bis-GMA eine vermehrte Bakterienanlagerung aufgrund der Bindung an die beiden

freien Hydroxylgruppen [SATOU et al., 1996]. Die Comonomere TEGDMA und EGDMA zeigen einen wachstumsfördernden Einfluss [HANSEL et al., 1998]. An Kompositen mit ähnlicher chemischer Zusammensetzung von Matrix und Füllkörpern kann eine ähnlich stark ausgeprägte Anlagerung von Bakterien beobachtet werden [BÜRGERS et al., 2009]. In der vorliegenden Untersuchung konnte, im Hinblick auf die Kunststoffzusammensetzung, kein Unterschied der bakteriellen Adhäsion erwartet werden, da alle untersuchten Materialien auf derselben Grundmatrix basierten. *In vivo* Untersuchungen zeigen aufgrund des Restmonomergehalts eine initial geringe bakterielle Besiedelung [KRÄMER et al., 1990]. Dieser Einfluss wurde in der vorliegenden Untersuchung durch eine einwöchige Wasserlagerung der Probekörper vor Versuchsdurchführung minimiert [HAHNEL et al., 2008].

6.3 Diskussion der Ergebnisse

Bei einzelnen Fluoreszenzmessungen in den vier Versuchsbedingungen wurden teilweise relativ hohe Abweichungen beobachtet. Sogar auf verschiedenen Probekörpern desselben Materials. Dies wird auch von anderen Autoren berichtet, die in ihren Untersuchungen große Standardabweichungen fanden [GRIVET et al., 2000; SARDIN et al., 2004; SATOU et al., 1988; TANNER et al., 2000; TAYLOR et al., 1998]. Auch aufgrund des verwendeten Kunstspeichels, der aus nur vier unterschiedlichen Bestandteilen bestand, kann von den gefundenen Ergebnissen nicht ohne Weiteres auf die *in vivo* Situation in der Mundhöhle geschlossen werden.

6.3.1 Einfluss der Oberflächeneigenschaften

In zahlreichen Studien wurde gezeigt, dass die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Probekörperoberfläche, vor allem Oberflächenrauigkeit und freie Oberflächenenergie, die Adhäsion von Bakterien *in vitro* und *in vivo* beeinflussen [AN et al., 1998; QUIRYNEN et al., 1995; SARDIN et al., 2004; TEUGHELS et al., 2006]. Der Einfluss der Rauigkeit zeigt hierbei die stärksten Auswirkungen [EICK et al., 2004; KAWAI et al., 2001; MORGAN et al., 2001; QUIRYNEN et al., 1995; TAYLOR et al., 1998; TEUGHELS et al., 2006]. Mikroskopische Untersuchungen deuten darauf hin, dass Mikrokratzer auf den Materialoberflächen für die initiale Bindung von Bakterien verantwortlich sind [HANNIG et al., 1999; NYVAD et al.,

1987]. Bürgers et al.. fanden in ihrer Untersuchung, trotz signifikanter Unterschiede der Oberflächenrauigkeit, keine generelle Korrelation zur Menge der adhärierten Bakterien [BÜRGERS et al., 2009]. Demzufolge müssen auch andere Oberflächeneigenschaften die Bakterienadhäsion beeinflussen. Durch Politur der Probekörper unter einen Wert von 0,2 μm wurde in der vorliegenden Untersuchung der Einfluss der Rauigkeit ausgeschlossen (Abb. 6.1 bis 6.4). Unter dem Schwellenwert von 0,2 μm kann keine weitere Verminderung der bakteriellen Adhäsion erreicht werden [BOLLEN et al., 1997; QUIRYNEN et al., 1996]. Folglich können die Unterschiede der Bakterienadhäsion nicht auf Unterschiede der Oberflächenrauigkeit zurückgeführt werden. Dabei bestätigt die vorliegende Untersuchung diese Hypothese, da bei medianen Rauigkeitswerten zwischen 0,04 und 0,08 μm keine signifikante Korrelation zwischen Rauigkeit und der Menge adhärterter Bakterien gefunden wurde.

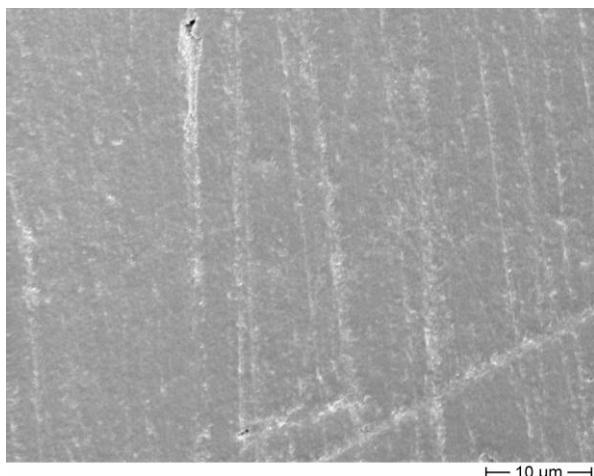


Abbildung 6.1: Oberfläche R709 1% BHT (1700x)

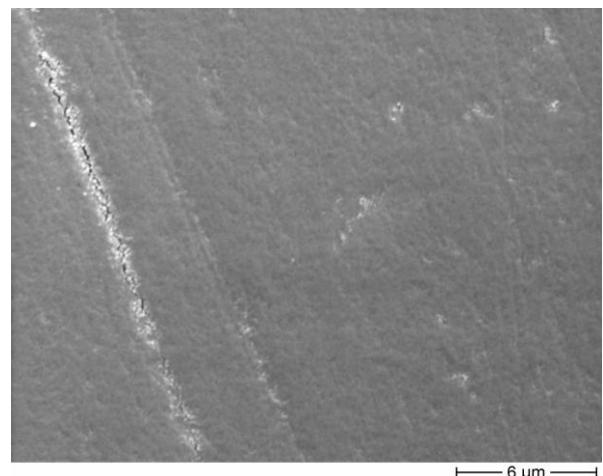


Abbildung 6.2: Oberfläche DT4 0% BHT (3750x)

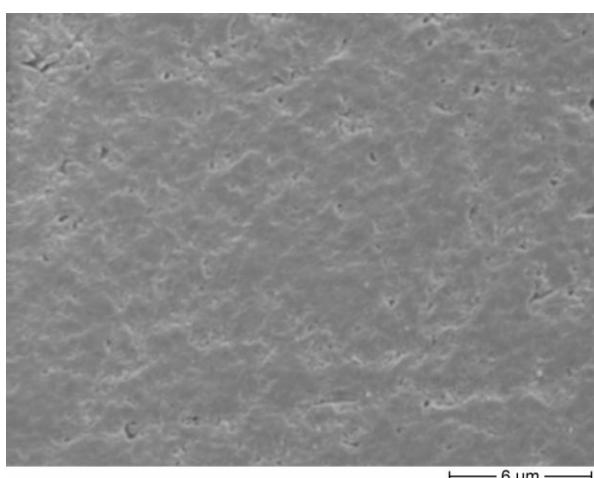


Abbildung 6.3: Oberfläche GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT (3800x)

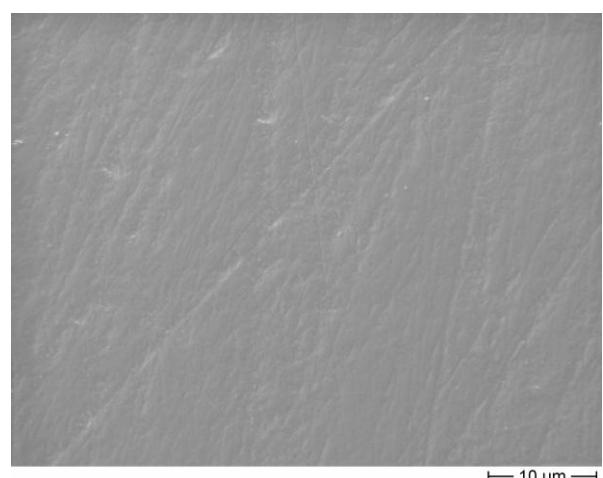


Abbildung 6.4: Oberfläche Grundmasse (1740x)

Bei Materialien mit hoher freier Oberflächenenergie kann, sowohl bei *in vitro* als auch *in vivo* Studien, eine signifikant erhöhte Plaqueanlagerung beobachtet werden, im Vergleich zu Materialien mit niedrigen Oberflächenenergien [HAHNEL et al., 2008; QUIRYNEN et al., 1995; TEUGHELS et al., 2006; VAN DIJK et al., 1987]. Mehrere Autoren fanden für zahlreiche Stämme von *S. mutans* hohe freie Oberflächenenergien ($> 100 \text{ mJ/m}^2$) [PRATT-TERPSTRA et al., 1989; WEERKAMP et al., 1985; WEERKAMP et al., 1988]. Da Bakterien mit hoher freier Oberflächenenergie bevorzugt an Materialoberflächen mit ebenfalls hoher Oberflächenenergie haften [AHN et al., 2003; MABBOUX et al., 2004; QUIRYNEN et al., 1995; STEINBERG et al., 2004; WEERKAMP et al., 1988], kann eine erhöhte bakterielle Adhäsion an Materialien mit hoher freier Oberflächenenergie erwartet werden. Durch Alterung kommt es zu einer Abnahme der freien Oberflächenenergie der Kunststoffoberfläche, was sich in einer reduzierten Menge adhärterter Bakterien zeigt [BÜRGERS et al., 2009]. In der vorliegenden Untersuchung weisen die untersuchten Materialien freie Oberflächenenergien zwischen 33,00 und 46,58 mJ/cm^2 auf. GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT besitzt die höchste mittlere freie Oberflächenenergie (46,58 mJ/cm^2) aller getesteten Materialien und zeigt in den Untersuchungen auch hohe Adhäsionswerte. Für den Kunststoff Ox 50 0% BHT mit einer niedrigen Oberflächenenergie von 36,89 mJ/cm^2 kann man jedoch ebenfalls eine erhöhte Anlagerung von Bakterien in allen vier Versuchen beobachten. Zugleich zeigen die Materialien R709 0% BHT (33,00 mJ/cm^2) und DT4 0% BHT (33,31 mJ/cm^2) mit einer niedrigen freien Oberflächenenergie niedrige Adhäsionswerte. Für DT4 1% BHT findet man bei einer niedrigen freien Oberflächenenergie (35,21 mJ/cm^2) eine mittlere bakterielle Adhäsion. Die übrigen Kunststoffe besitzen eine ähnliche freie Oberflächenenergie (38,01 bis 42,07 mJ/cm^2) und zeigen mittlere bis niedrige Adhäsionswerte. Jedoch kann man für keinen der durchgeführten Anlagerungsversuche eine statistisch bedeutsame Korrelation zwischen der Adhäsion von Bakterien und der freien Oberflächenenergie erkennen.

Die Menge der adhärierten Bakterien ändert sich mit einer Vielzahl von verschiedenen Oberflächenparametern, da die bakterielle Adhäsion ein multifaktorieller Prozess ist und nicht nur auf Oberflächenrauigkeit und freie Oberflächenenergie reduziert werden kann [WHITEHEAD et al., 2006]. Ebenso sind nicht nur die Eigenschaften der Kunststoffoberflächen für die bakterielle Adhäsion von Bedeutung. Auch der hydrophobe Charakter der verwendeten Bakterienstämme spielt eine Rolle, welcher von verwendetem Kulturmedium, Bakterienalter und der Oberflächenstruktur beeinflusst wird [AN et al., 1998; VAN LOOSDRECHT et al., 1987].

6.3.2 Auswirkungen der verschiedenen Füllkörper

Als Füllkörper in den untersuchten Materialien wurden SiO_2 und Ba-Al-B-Silikat verwendet. Die Konzentration der Füllkörper betrug 30 Gew.-% und liegt unter den Füllkörperkonzentrationen von heutzutage verwendeten Kompositen, die einen Füllkörperanteil von 70 - 80 Gew.-% erreichen [PHILLIPS, 1991; WILLEMS et al., 1993]. Die Größe der in dieser Studie verwendeten Füllkörper wurde in deren mittleren spezifischen Oberfläche angegeben, welche die gesamte Oberfläche der Füllkörper erfasst. Mit zunehmender Feinheit der Füllkörper kommt es zu einer Zunahme der mittleren spezifischen Oberfläche [GYSAU, 2007]. Dabei ist die spezifische Oberfläche nicht nur von der Größe, sondern auch von der Form der Füllkörper abhängig. So weisen lamellare (plättchenförmige) Füllkörper größere spezifische Oberflächen auf als nodulare Füllkörper mit vergleichbarer Partikelgröße [GYSAU, 2007]. Die mittleren spezifischen Oberflächen der in der vorliegenden Studie verwendeten Füllkörper lagen zwischen 0,6 und $150 \text{ m}^2/\text{g}$. Faltermeier et al.. fanden in ihrer Untersuchung keinen signifikanten Einfluss von Füllkörpern in Kompositadhäsiven auf Kunstharzbasis auf die bakterielle Adhäsion [FALTERMEIER et al., 2007]. Im Vergleich verschiedener ungefüllter Kunststoffe mit einem mit SiO_2 gefüllten Kunststoff wurde ebenfalls kein signifikanter Unterschied in der Bakterienanlagerung beobachtet [FALTERMEIER et al., 2008]. Die niedrigsten Adhäsionswerte werden bei ungefüllten Kompositen gefunden [FALTERMEIER et al., 2007; HAHNEL et al., 2008]. Konventionelle Komposite mit Makrofüllern begünstigen hingegen die bakterielle Adhäsion [HELLWIG et al., 2006]. Auch in der vorliegenden Studie zeigt sich für den Kunststoff ohne Füllkörper (Grundmasse) eine niedrige bakterielle Adhäsion in allen vier Versuchsbedingungen.

Für die drei Materialien mit SiO_2 -Füllkörper und 0% BHT (Ox 50, R709, DT4) zeigen sich bei R709 und DT4 ähnliche Adhäsionswerte (Abb. 6.5 und 6.6). Bei Ox 50 kann man eine höhere bakterielle Adhäsion beobachten (Abb. 6.7 und 6.8). Diese Tendenz der drei Materialien zeigt sich auch bei Zusatz von 1% BHT, wobei hier bei allen drei Materialien ein höheres Anlagerungsniveau zu finden ist. Die Füllkörper der beiden Kunststoffe R709 ($40 \text{ m}^2/\text{g}$) und DT4 ($150 \text{ m}^2/\text{g}$) zeigen deutliche Unterschiede der mittleren spezifischen Oberfläche, weisen allerdings ähnliche Werte in der bakteriellen Adhäsion auf. Für Ox 50 mit einer hohen Anlagerung bei allen vier Versuchsbedingungen, findet man eine mittlere spezifische Oberfläche von $50 \text{ m}^2/\text{g}$. Es lässt sich daher kein Zusammenhang der bakteriellen Adhäsion mit der mittleren spezifischen Oberfläche erkennen.

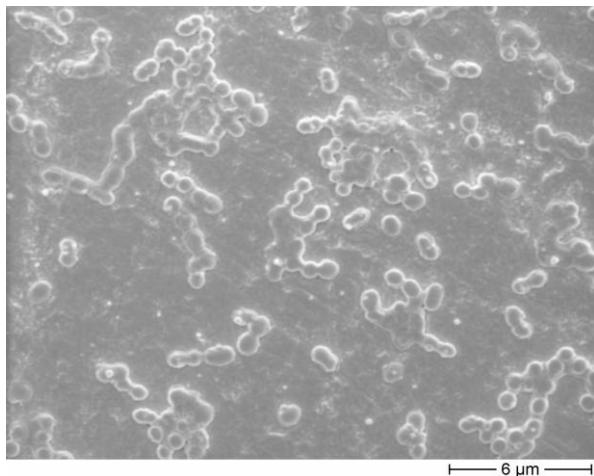


Abbildung 6.5: Niedrige Anlagerung von *S. sanguinis* ohne Pellikel an R709 0 % BHT (3800x)

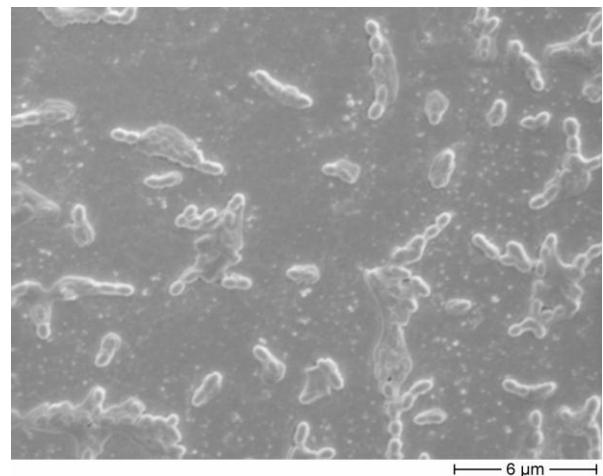


Abbildung 6.6: Niedrige Anlagerung von *S. mutans* mit Pellikel an DT4 0 % BHT (3800x)

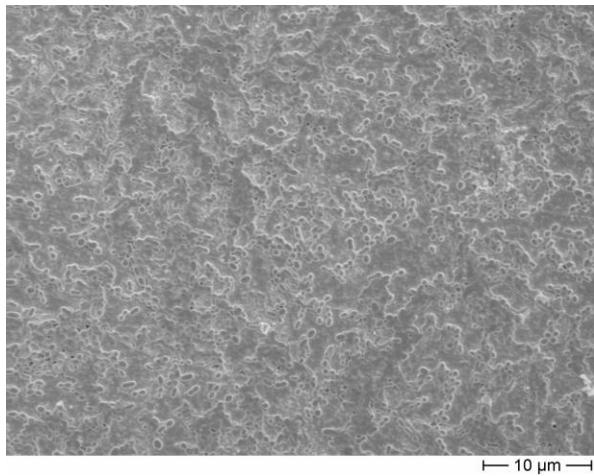


Abbildung 6.7: Hohe Anlagerung von *S. sanguinis* ohne Pellikel an Ox 50 0 % BHT (1740x)

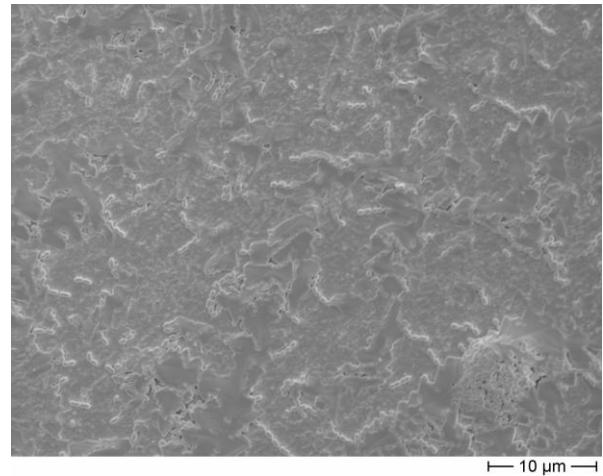


Abbildung 6.8: Hohe Anlagerung von *S. mutans* mit Pellikel an Ox 50 1 % BHT (1740x)

Drei Materialien (GK 0,7 UF silanisiert, K6 silanisiert bzw. nicht silanisiert) enthalten Ba-Al-B-Silikat-Füllkörper. Für die Materialien ohne BHT-Zusatz zeigen sich ähnlich niedrige Adhäsionswerte über alle vier Versuchsbedingungen (Abb. 6.9 bis 6.11). Bei Zusatz von 1% BHT findet man für GK 0,7 UF silanisiert und K6 nicht silanisiert höhere Werte der bakteriellen Adhäsion (Abb. 6.12 und 6.13), verglichen mit K6 silanisiert, welches eine geringere Bakterienanlagerung aufweist (Abb. 6.14). Die mittlere spezifische Oberfläche dieser Materialien ist für GK 0,7 UF silanisiert $13 \text{ m}^2/\text{g}$ und für K6 silanisiert bzw. nicht silanisiert $0,6 \text{ m}^2/\text{g}$. Auch hier lässt sich kein Zusammenhang der Bakterienadhäsion mit der mittleren spezifischen Oberfläche erkennen.

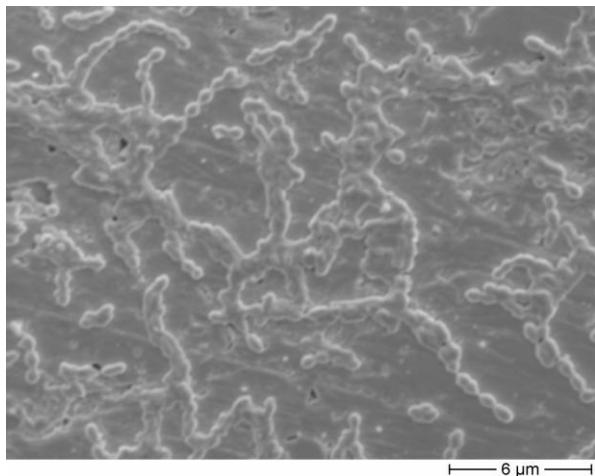


Abbildung 6.9: Niedrige Anlagerung von *S. mutans* ohne Pellikel an K6 silanisiert 0% BHT (3800x)

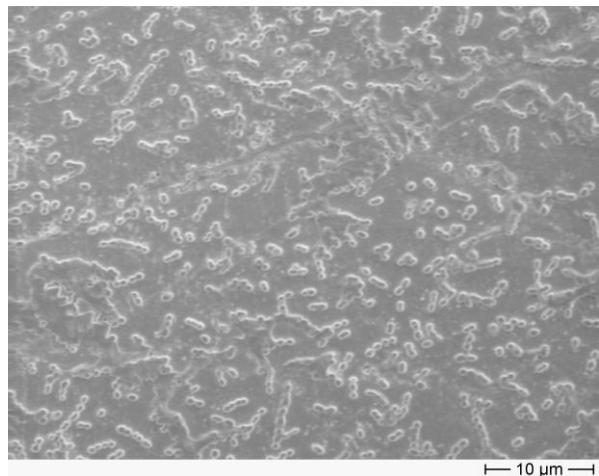


Abbildung 6.10: Niedrige Anlagerung von *S. sanguinis* mit Pellikel an GK 0,7 UF silanisiert 0% BHT (1740x)

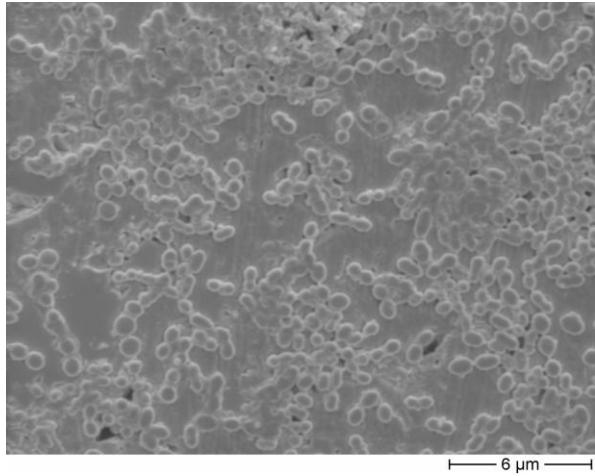


Abbildung 6.11: Niedrige Anlagerung von *S. sanguinis* ohne Pellikel an K6 nicht silanisiert 0% BHT (3800x)

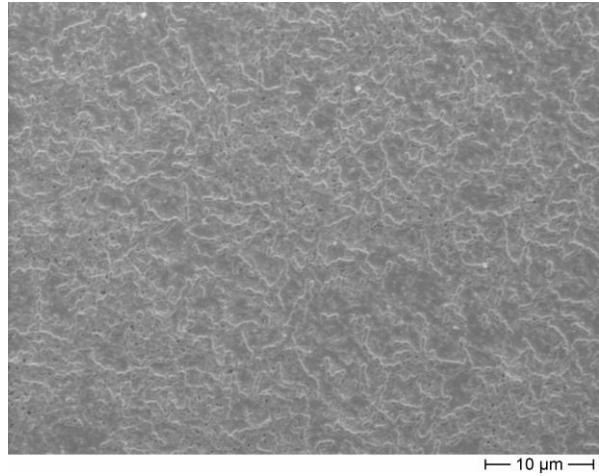


Abbildung 6.12: Hohe Anlagerung von *S. mutans* ohne Pellikel an GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT (1740x)

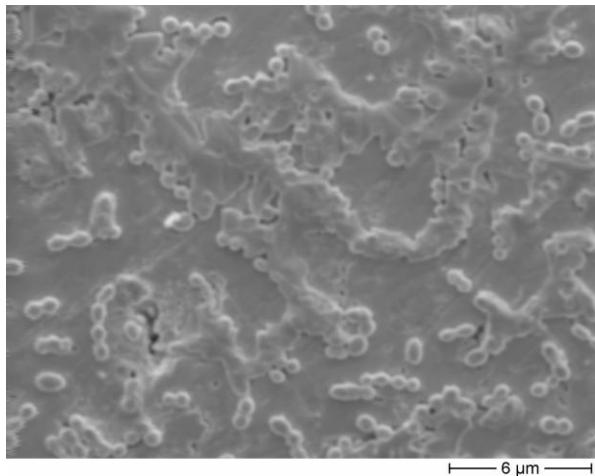


Abbildung 6.13: Hohe Anlagerung von *S. sanguinis* mit Pellikel an K6 nicht silanisiert (3800x)

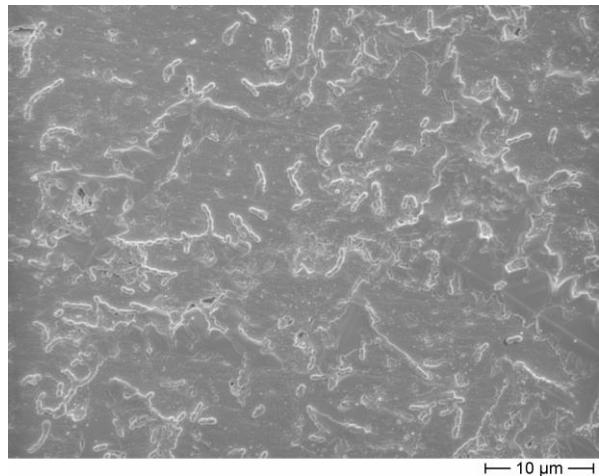


Abbildung 6.14: Niedrige Anlagerung von *S. mutans* mit Pellikel an K6 silanisiert 1% BHT (3800x)

Im Vergleich der beiden Füllkörpermaterialien SiO_2 und Ba-Al-B-Silikat, kann man für die Materialien ohne BHT-Zusatz, mit Ausnahme von Ox 50, ähnlich niedrige Adhäsionswerte beobachten. Bei Zusatz von 1% BHT zeigen die Materialien R709, DT4 (beide SiO_2) und GK 0,7 UF silanisiert, K6 nicht silanisiert (beide Ba-Al-B-Silikat) ähnliche Anlagerungswerte. Für Ox 50 (SiO_2) findet man höhere Werte, für K6 silanisiert (Ba-Al-B-Silikat) niedrigere Werte, verglichen mit den Materialien ohne BHT-Zusatz. Dabei zeigen die SiO_2 -Füllkörper (40 bis 150 m^2/g) höhere mittlere spezifische Oberflächen als Ba-Al-B-Silikat -Füllkörper (0,6 bis 13 m^2/g). Daraus kann man schließen, dass sowohl die mittlere spezifische Oberfläche, als auch das Material des Füllkörpers keinen Einfluss auf die bakterielle Adhäsion besitzt.

Die Unterschiede in den Anlagerungsniveaus zeigen sich bei allen vier Versuchsbedingungen, was keinen homogenisierenden Effekt des Pellikels erkennen lässt. Jedoch zeigen sich für die einzelnen Materialien Unterschiede im Hinblick auf BHT-Zusatz bzw. Silanisierung der Füllkörper. Diese scheinen die Adhäsion von *S. mutans* und *S. sanguinis* stärker zu beeinflussen als das Material bzw. die mittlere spezifische Oberfläche der Füllkörper.

6.3.3 Auswirkungen der Silanisierung der Füllkörper

Durch Silanisierung der Füllkörper kommt es zur Hydrophobierung der Füllkörper, was notwendig ist, um einen Verbund zur hydrophoben Matrix zu gewährleisten [HELLWIG et al., 2006; KARABELA et al., 2008]. In zahlreichen Studien konnte gezeigt werden, dass es auf einer hydrophoben Oberfläche zu einer erhöhten Ansammlung von Proteinen kommt [CHRISTERSSON et al., 2000; EICK et al., 2006; LINDH et al., 1999; LINDH, 2002; LINDH et al. 2002; NORDE, 1995; VASSILAKOS et al., 1992; VASSILAKOS et al., 1993]. Einige der im Speichel enthaltenen Proteine dienen dabei als spezifische Bindungsstellen für Bakterien [GE et al., 2004; SCANNAPIECO et al., 1995; WHITTAKER et al., 1996]. Durch Hydrophilieren der Oberfläche fanden Okada et al.. in ihrer Untersuchung eine Inhibition der Biofilmbildung [OKADA et al., 2008]. Da *Streptokokken* hydrophobe Oberflächen besitzen [COURTNEY et al., 2009], binden sie bevorzugt an hydrophoben Oberflächen [AN et al., 1998; MORGAN et al., 2001; QUIRYNEN et al., 1995]. Nicht silanisierte Füllkörper weisen jedoch hydrophile Eigenschaften auf, was den Verbund mit der hydrophoben Matrix verschlechtert. Durch Politur werden einzelne Füllkörper freigelegt, was zu einer erhöht hydrophilen Oberfläche führt. Es wäre daher naheliegend, dass es durch Silanisierung der Füllkör-

per zu einer hydrophoberen Oberfläche kommt, wodurch man eine vermehrte Adhäsion vermuten kann. In der vorliegenden Untersuchung ist allerdings eine tendenziell höhere Anlagerung an den Materialien mit nicht silanisierten Füllkörpern zu beobachten (Abb. 6.15 und 6.16), im Vergleich zu silanisierten Füllkörpern (Abb. 6.17 und 6.18). Diese tendenziell erhöhte Adhäsion an nicht silanisierten Füllkörpern zeigt sich sowohl bei den Bedingungen ohne als auch mit Pellikel. Bei Betrachtung aller 13 Materialien lässt sich diese Tendenz ebenfalls feststellen. Die höchsten Anlagerungswerte bei allen vier Versuchen findet man bei Ox 50 0% bzw. 1% BHT und K6 nicht silanisiert 1% BHT, die nicht silanisierte Füllkörper enthalten. Die Kunststoffe Ox 50 und R709 besitzen ähnlich große SiO_2 -Füllkörper ($50 \text{ m}^2/\text{g}$ bzw. $40 \text{ m}^2/\text{g}$), die sich jedoch in deren Silanisierung unterscheiden. So kann man für den Kunststoff Ox 50 0% bzw. 1% BHT (nicht silanisierte Füllkörper), im Vergleich zu R709 0% bzw. 1% BHT (silanisierte Füllkörper), in allen vier Versuchsbedingungen signifikant höhere Werte der bakteriellen Anlagerung feststellen. Auch für den Vergleich von Ox 50 0% bzw. 1% BHT mit DT4 0% bzw. 1% BHT, der deutlich feinere und silanisierte SiO_2 -Füllkörpern ($150 \text{ m}^2/\text{g}$) enthält, zeigt sich diese Tendenz.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen keine homogenisierende Wirkung des Pellikels feststellen, wie es in vielen Studien beschrieben ist [HANHNE et al., 2009; ICHIKAWA et al., 1998; JENDRESEN et al., 1980; MORGE et al., 1989; SATOU et al., 1991; TANNER et al., 2000]. Dies legt die Vermutung nahe, dass die Adhäsion mit anderen spezifischen Eigenschaften der Füllkörper in Verbindung steht und nicht mit dem hydrophoben Charakter des Silans.

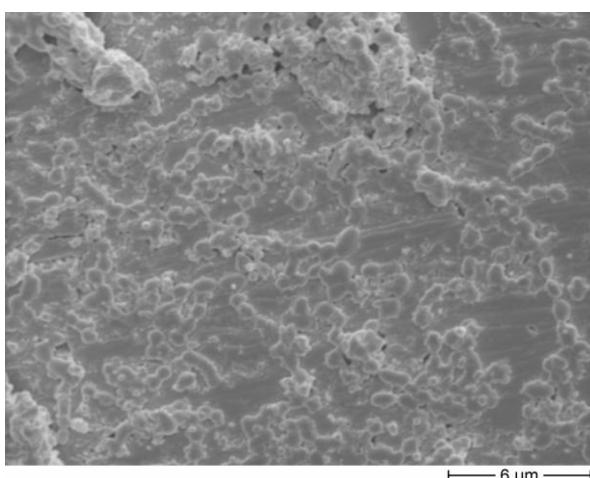


Abbildung 6.15: Hohe Anlagerung von *S. sanguinis* ohne Pellikel an K6 nicht silanisiert 1% BHT (3800x)

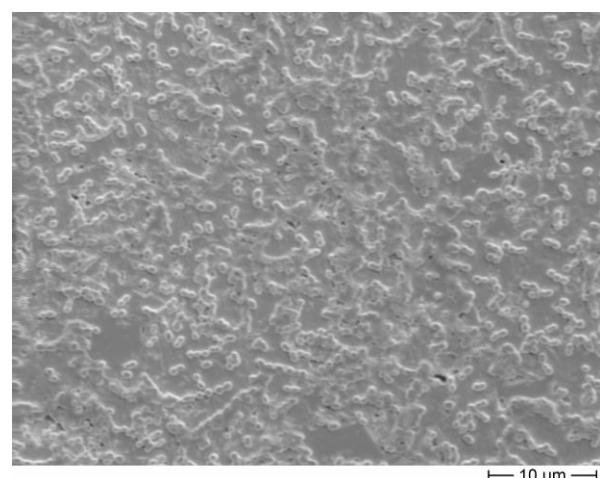


Abbildung 6.16: Hohe Anlagerung von *S. sanguinis* mit Pellikel an K6 nicht silanisiert 0% BHT (1740x)

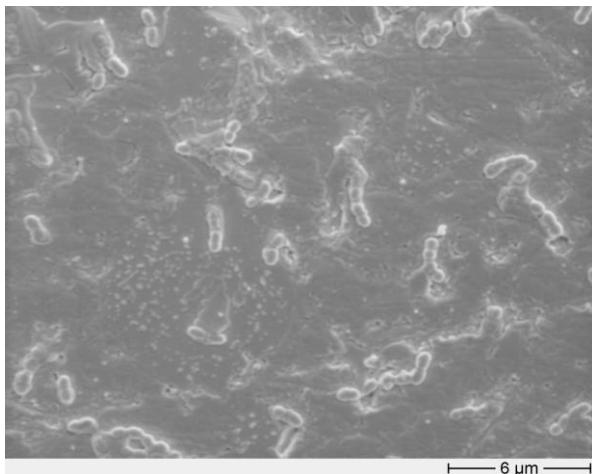


Abbildung 6.17: Niedrige Anlagerung von *S. mutans* mit Pellikel an K6 silanisiert 1% BHT (3800x)

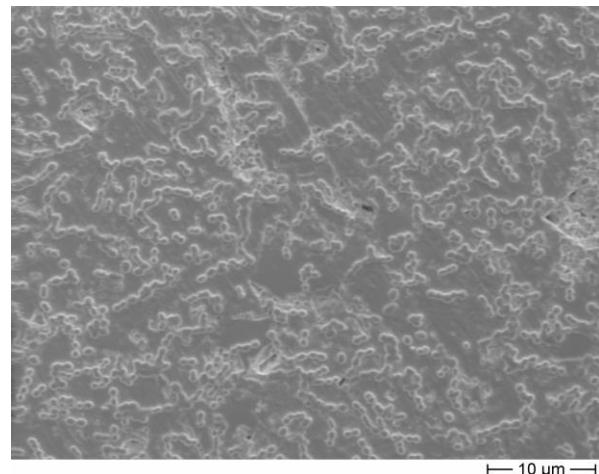


Abbildung 6.18: Niedrige Anlagerung von *S. sanguinis* mit Pellikel an K6 silanisiert 1% BHT (1740x)

6.3.4 Auswirkungen von BHT-Zusatz

Der Inhibitor BHT ist ein gängiger Zusatz in Kompositmaterialien zur Verhinderung einer vorzeitigen Polymerisation [FERRACANE, 1995; PHILLIPS, 1991; SPAHL et al., 1998]. Der hydrophobe Charakter von BHT lässt vermuten, dass die hydrophoben Eigenschaften des Kunststoffs verstärkt werden. Die Zunahme der Hydrophobität der Oberfläche führt zu einer erleichterten Adhäsion von hydrophoben Bakterien [AN et al., 1998; MORGAN et al., 2001; QUIRYNEN et al., 1995], wie die in dieser Untersuchung verwendeten Keime *S. mutans* und *S. sanguinis* [COURTNEY et al., 2009]. Dies könnte die gefundene, tendenziell höhere bakterielle Adhäsion an Materialien mit Zusatz von 1% BHT erklären (Abb. 6.19 - 6.22). Entsprechende Unterschiede können bei allen vier Versuchsbedingungen beobachtet werden. Daher kann eine Homogenisierung der Oberflächeneigenschaften durch das Pellikel ausgeschlossen werden. Hierzu sind weitere Studien notwendig, um den Einfluss von BHT auf die Oberflächeneigenschaften näher zu beleuchten. Auch wäre es interessant zu untersuchen, wie die vermehrte Adhäsion der beiden Testkeime bei Zusatz von BHT zu erklären ist, ob dies aufgrund des hydrophoben Charakters geschieht oder freie Gruppen des Moleküls hierfür verantwortlich sind.

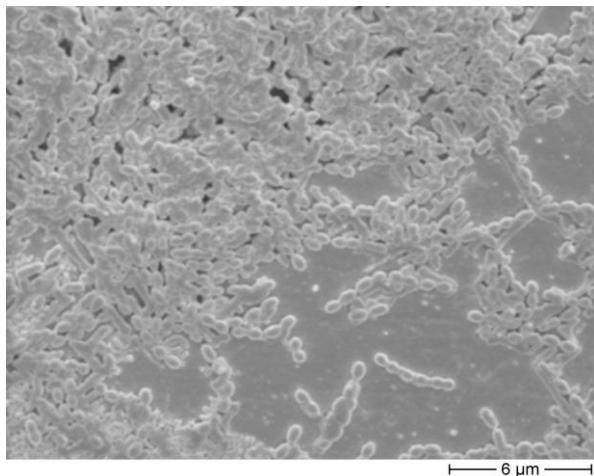


Abbildung 6.19: Hohe Anlagerung von *S. mutans* mit Pellikel an DT4 1% BHT (3800x)

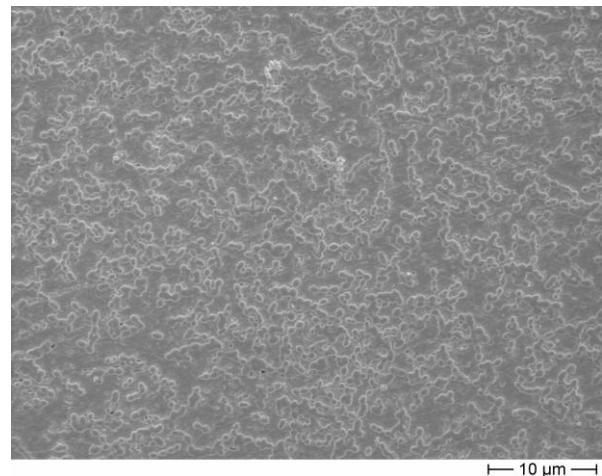


Abbildung 6.20: Hohe Anlagerung von *S. sanguinis* ohne Pellikel an GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT (1740x)

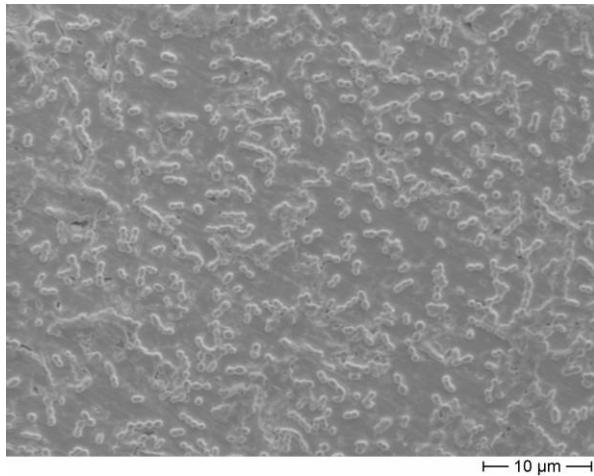


Abbildung 6.21: Niedrige Anlagerung von *S. sanguinis* mit Pellikel an K6 nicht silanisiert 0% BHT (1740x)

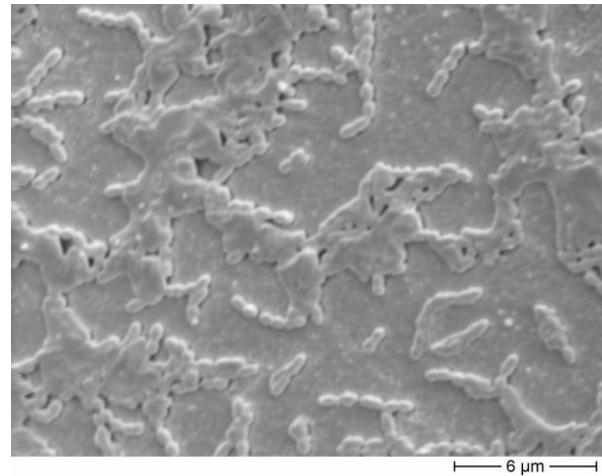


Abbildung 6.22: Niedrige Anlagerung von *S. mutans* ohne Pellikel an R709 0% BHT (3800x)

6.3.5 Vergleich von *Streptococcus mutans* und *Streptococcus sanguinis*

Nach dem thermodynamischen Gesetz binden Bakterien mit hohen freien Oberflächenenergien bevorzugt an Oberflächen mit ebenfalls hohen freien Oberflächenenergien [ELIADES et al., 1995; QUIRYNEN et al., 1995]. *S. mutans* bindet spezifisch an Muzine aus dem Speichel [GE et al., 2004], wohingegen *S. sanguinis* spezifisch mit α -Amylase interagiert [SCANNAPIECO et al., 1995; WHITTAKER et al., 1996]. Bei konventionellen Kompositen können ähnliche Adhäsionswerte für die Anlagerung von *S. mutans* und *S. sanguinis* ohne Pellikel gefunden werden [BÜRGERS et al., 2009]. In der durchgeführten Untersuchung zeigt sich jedoch eine tendenziell höhere Anlagerung von *S. sanguinis*, verglichen mit *S. mutans* (Abb. 6.23 bis 6.26).

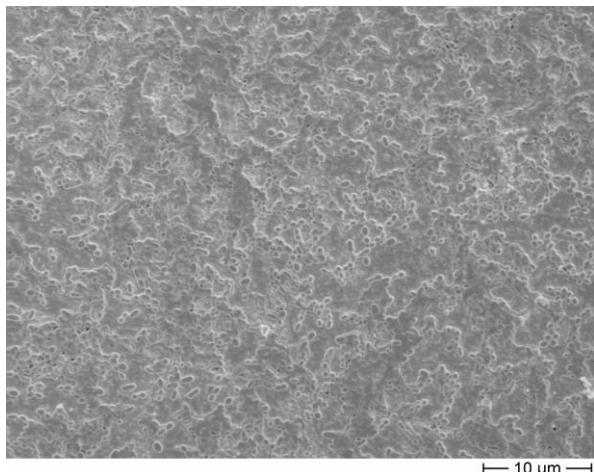


Abbildung 6.23: Hohe Anlagerung von *S. sanguinis* ohne Pellikel an Ox 50 0% BHT (1740x)

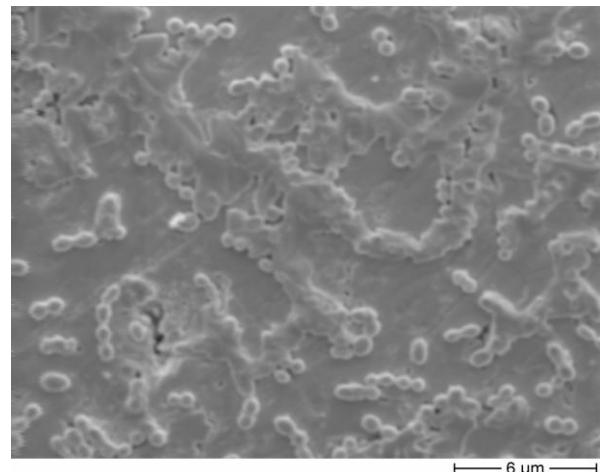


Abbildung 6.24: Hohe Anlagerung von *S. sanguinis* mit Pellikel an K6 nicht silanisiert 1% BHT (3800x)

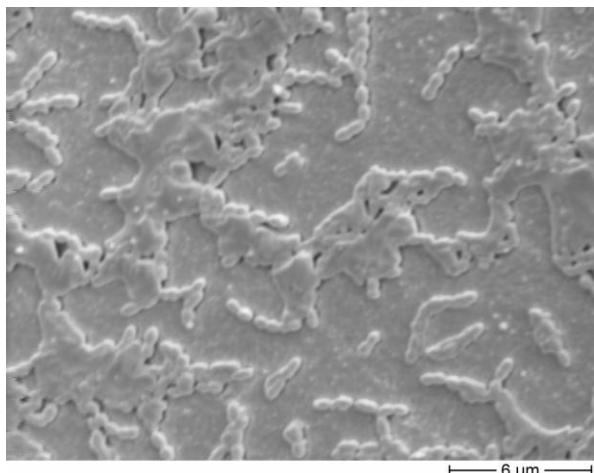


Abbildung 6.25: Niedrige Anlagerung von *S. mutans* ohne Pellikel an R709 0% BHT (3800x)

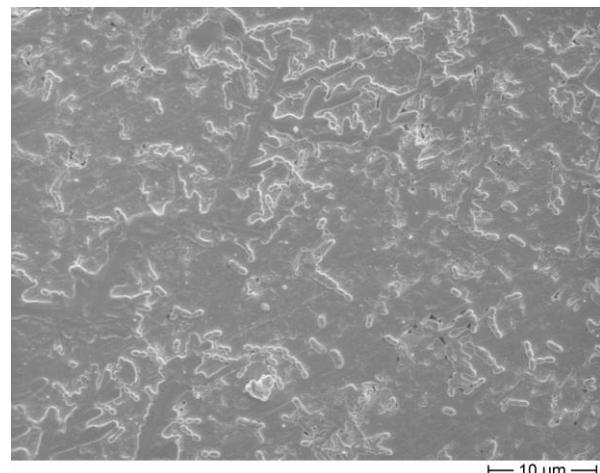


Abbildung 6.26: Niedrige Anlagerung von *S. mutans* mit Pellikel an K6 silanisiert 0% BHT (1740x)

Dies lässt sich für die Anlagerung ohne Pellikel bei allen 13 Materialien beobachten. Bei Anlagerung mit Pellikel lässt sich keine Tendenz zu einem der beiden Testkeime feststellen. Es zeigt sich hier eine erhöhte Adhäsion von *S. sanguinis* für fünf Materialien, für die restlichen acht Kunststoffe findet man ein höheres Anlagerungsniveau von *S. mutans*. Da *S. sanguinis* einer der ersten und bedeutendsten Frühbesiedler ist [BECKER et al., 2002; LI et al., 2004; MARCHANT et al., 2001; ROSAN et al., 2000], könnte dies die erhöhte Adhäsion im Vergleich zu *S. mutans*, vor allem in der Versuchsbedingung ohne Pellikel erklären. Dies würde bedeuten, dass *S. sanguinis* stärker mit dem Material interagiert als *S. mutans*. *In vivo* Untersuchungen ergaben, dass *S. mutans* weniger als zwei Prozent der gesamten *Streptokokken* der initialen Plaque ausmacht [NYVAD et al., 1990]. In der Versuchsbedingung mit Pellikel

könnte eine verstärkte Interaktion von *S. mutans* mit Proteinen des Kunstspeichels die, im Vergleich zur Anlagerung ohne Pellikel, vermehrte Adhäsion erklären.

6.3.6 Auswirkungen des Pellikels auf die bakterielle Adhäsion

Restaurative Oberflächen in der Mundhöhle sind innerhalb weniger Minuten mit einem Pellikel bedeckt [HANNIG, 1999; VACCA-SMITH et al., 2000]. Daher wurde in dieser Untersuchung dessen Auswirkung auf die bakterielle Adhäsion untersucht. Es besteht bisher jedoch keine Einigkeit, ob das Vorhandensein eines Pellikels die Adhäsion von Mikroorganismen reduziert oder verstärkt [AN et al., 1998; TEUGHELS et al., 2006]. Einige Studienergebnisse sprechen dafür, dass ein Pellikel die bakterielle Adhäsion beeinträchtigt, was z. B. auf die Nivellierung der ursprünglich unterschiedlichen freien Oberflächenenergien zurückzuführen ist [HAHNEL et al., 2009; ICHIKAWA et al., 1998; JENDRESEN et al., 1980; MORGE et al., 1989; SATOU et al., 1991; TANNER et al., 2000]. Bei diesen Studien muss jedoch berücksichtigt werden, dass entweder experimentelle Materialien bzw. Materialien mit stark unterschiedlichen physikalisch-chemischen Oberflächeneigenschaften verwendet worden sind [HAHNEL et al., 2008]. Bei Vergleich von Materialien mit Oberflächeneigenschaften, die auf einem ähnlichen Niveau liegen, kann kein homogenisierender Effekt des Pellikels festgestellt werden [HAHNEL et al., 2008]. Dieses Ergebnis zeigt sich auch in der vorliegenden Untersuchung, in der man keinen homogenisierenden Effekt beobachten kann, da auch nach Pellikelbildung deutliche Unterschiede in der Adhäsion von Bakterien festzustellen sind. Ahn et al. zeigten, dass es durch die Bildung eines Pellikels zum Abfall der freien Oberflächenenergie kommt, was die unspezifische Bindung von *S. mutans* beeinträchtigt [AHN et al., 2005]. In anderen Studien wurde eine erleichterte Adhäsion von *S. mutans* an Hydroxylapatit in Gegenwart eines Pellikels gefunden [GIBBONS et al., 1986; LILJEMARK et al., 1986]. Einige Studien weisen auf deutliche Unterschiede des *in vitro* gebildeten Pellikels und des *in vivo* gebildeten Pellikels hin. Diese zeigen sich in der Konsistenz, Zusammensetzung und der Enzymaktivität [CARLÉN et al., 1998; LINDH et al., 2002; YAO et al., 2001; YAO et al., 2003]. Ursache hierfür könnte die intraorale Reifung des Biofilms durch Proteasen und Transglutaminasen sein [BRADWAY et al., 1992; HANNIG et al., 2005; HANNIG et al., 2008; YAO et al., 1999; YAO et al., 2000]. Speichelbestandteile adsorbieren nicht im gleichen Umfang auf hydrophilen und hydrophoben Oberflächen. So zeigt sich eine höhere Adsorption auf hydrophoben Oberflächen [CHRISTERSSON et al., 2000]. In dieser Untersuchung wird die Bil-

dung eines Pellicel simuliert, indem ein künstlicher Speichel, der Muzin, Lysozym, α -Amylase und Albumin enthält, verwendet wird. Es ist bekannt, dass *S. mutans* spezifisch an Muzine aus dem Speichel bindet [GE et al., 2004] und *S. sanguinis* mit α -Amylase interagiert [SCANNAPIECO et al., 1995; WHITTAKER et al., 1996]. Lysozym konnte eine inhibierende Wirkung auf die bakterielle Adhäsion an Zahnoberflächen nachgewiesen werden. Diese Wirkung ist jedoch abhängig vom Bakterienstamm, wobei für *S. mutans* kein Einfluss beobachtet werden kann [LUMIKARI et al., 1991; TENOVOU, 2002]. Generell sind *Streptokokken* in der Lage, der antimikrobiellen Wirkung des Speichels standzuhalten [IACONO et al., 1980]. Auch wenn der verwendete künstliche Speichel kein vollständig der Realität entsprechender Ersatz für den menschlichen Speichel ist, simuliert er ihn jedoch bezüglich der Ausbildung einer Proteinschicht auf der Probenoberfläche [SATOU et al., 1991]. Im menschlichen Speichel finden sich allerdings mehr Proteine, die auf verschiedenen Materialien unterschiedliche Adsorptionsmuster zeigen. *Streptokokken* interagieren spezifisch mit einer Vielzahl an Proteinen, was *in vivo* eine veränderte Adhäsion als *in vitro* zeigen könnte [ROSENTRITT et al., 2008]. Dabei bewirkt das Pellicel in dieser Untersuchung eine erhöhte mediane Adhäsion von Bakterien, sowohl bei der Anlagerung von *S. mutans* als auch von *S. sanguinis* (Abb. 6.27 bis 6.32). Diese Unterschiede weisen in 65% der Fälle statistische Signifikanz auf. Für *S. sanguinis* konnte Gibbons ebenfalls eine höhere Anlagerung bei Anwesenheit eines experimentell gebildeten Pellicels zeigen [GIBBONS, 1989]. Satou et al. beobachteten jedoch eine signifikant erniedrigte Adhäsion von *S. sanguinis* bei Anlagerung mit Pellicel [SATOU et al., 1991]. *S. mutans* zeigt im Gegensatz zu den Ergebnissen dieser Untersuchung in zahlreichen Studien niedrigere Adhäsionswerte in Anwesenheit eines Pellicels [AHN et al., 2005; HAHNEL et al., 2009; SATOU et al., 1991; TANNER et al., 2000; WEERKAMP et al., 1988]. Die erhöhte Adhäsion bei vorhandenem Pellicel könnte durch verstärkte Interaktion der Mikroorganismen mit den Bestandteilen des verwendeten Kunstspeichels erklärt werden.

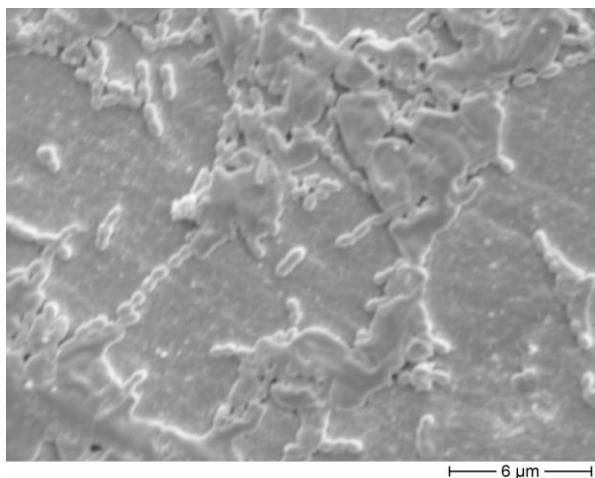


Abbildung 6.27: Niedrige Anlagerung von *S. mutans* ohne Pellikel an R709 0% BHT (3800x)

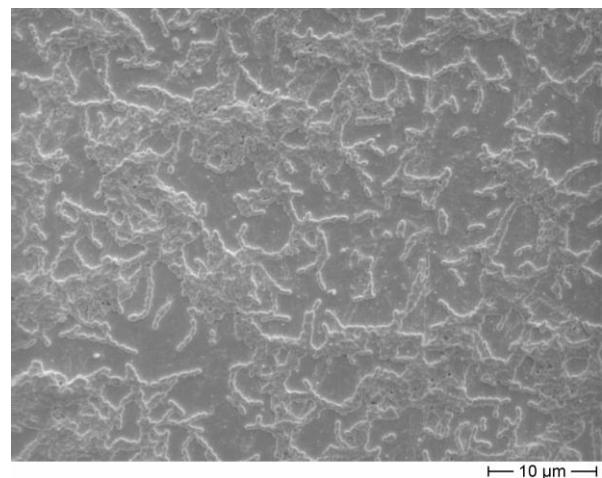


Abbildung 6.28: Niedrige Anlagerung von *S. mutans* ohne Pellikel an der Grundmasse (1740x)

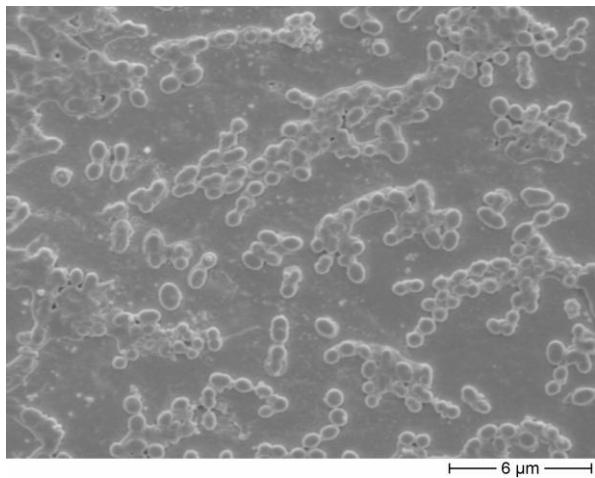


Abbildung 6.29: Niedrige Anlagerung von *S. sanguinis* ohne Pellikel an DT4 0% BHT (3800x)

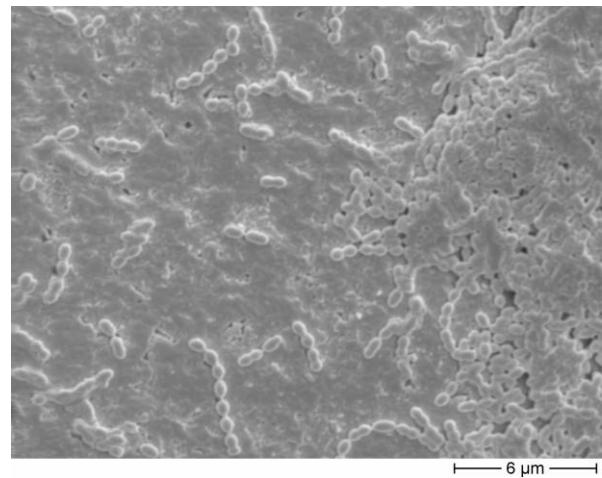


Abbildung 6.30: Hohe Anlagerung von *S. mutans* mit Pellikel an GK 0,7 UF silanisiert 1% BHT (3800x)

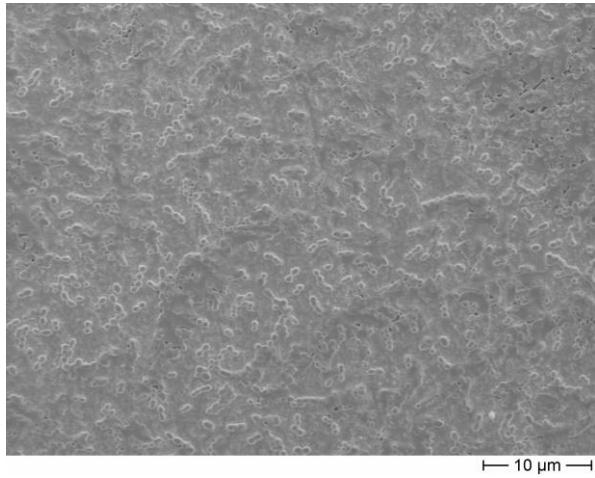


Abbildung 6.31: Hohe Anlagerung von *S. sanguinis* mit Pellikel an Ox 50 0% BHT (1740x)

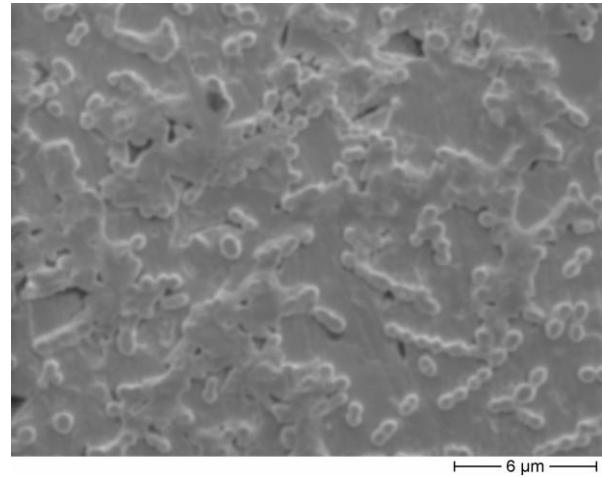


Abbildung 6.32: Hohe Anlagerung von *S. sanguinis* mit Pellikel an K6 nicht silanisiert 0% BHT (3800x)

7 Zusammenfassung

Thema der vorliegenden Studie war die Untersuchung der Einflüsse von Füllkörpern in Kompositmaterialien auf die initiale bakterielle Adhäsion. Als Testkeime wurden die Mikroorganismen *S. mutans* und *S. sanguinis* verwendet. Zusätzlich wurde der Einfluss des Pellikels, des Inhibitors BHT und der Silanisierung der Füllkörper auf die initiale Adhäsion untersucht. Die Adhäsion der beiden Testkeime *S. mutans* und *S. sanguinis* wurde ebenfalls miteinander verglichen. Bei den 13 getesteten Materialien handelte es sich um experimentelle Werkstoffe, basierend auf derselben Grundmatrix. Ein Kunststoff beinhaltete keine Füllkörper (Grundmasse), die restlichen zwölf Kunststoffe zeigten eine Füllkörperkonzentration von 30 Gew.-%. Es wurden verschiedene Füllkörpermaterialien (SiO_2 , Ba-Al-B-Silikat) mit verschiedenen spezifischen Oberflächen (0,6 bis 150 m^2/g) zugesetzt. Zwei Materialien (K6 0% BHT, K6 1% BHT) unterschieden sich jeweils in der Silanisierung (silanisiert bzw. nicht silanisiert) der Füllkörper. Für sechs Materialien (Ox 50, R709, DT4, GK 0,7 UF silanisiert, K6 silanisiert, K6 nicht silanisiert) fand man jeweils einen Unterschied in der Menge des Inhibitors BHT (0% bzw. 1%). Durch Politur der Proben unter einen Wert von 0,2 μm wurde der Einfluss der Oberflächenrauigkeit ausgeschlossen. Insgesamt wurden vier Anlagerungsversuche durchgeführt (*S. mutans* ohne Pellikel, *S. mutans* mit Pellikel, *S. sanguinis* ohne Pellikel, *S. sanguinis* mit Pellikel). Die Proben wurden mit einer Bakteriensuspension der optischen Dichte 0,3 und dem Farbstoff Resazurin für 2,5 h bei 37° C inkubiert. Anschließend wurde über Fluoreszenzmessung die Menge lebender Zellen bestimmt. Bei den Versuchsbedingungen mit Pellikel erfolgte im Vorfeld eine Inkubation (2 h/37° C) der Proben mit künstlichem Speichel (Proteinlösung).

In der Untersuchung findet sich kein Einfluss, sowohl des Materials als auch der spezifischen Oberfläche der Füllkörper auf die bakterielle Adhäsion. Hingegen zeigen Materialien mit nicht silanisierten Füllkörpern eine tendenziell vermehrte Anlagerung von Bakterien, verglichen mit silanisierten Füllkörpern. Ebenso kann man bei Zusatz von 1% des Inhibitors BHT eine tendenziell höhere Adhäsion, im Vergleich zu Materialien ohne BHT beobachten. Im Vergleich der beiden Testkeime, zeigt sich in der Versuchsbedingung ohne Pellikel eine tendenziell höhere Adhäsion von *S. sanguinis*, verglichen mit *S. mutans*. Bei Anlagerung mit vorhandenem Pellikel kann man diese Tendenz nicht beobachten. Die Bildung eines Pellikels führt, sowohl für *S. mutans* als auch für *S. sanguinis*, zu einer höheren bakteriellen Adhäsion

auf allen 13 getesteten Materialien, im Vergleich zur Anlagerung ohne Pellikel. Ein homogenisierender Effekt des Pellikels kann nicht beobachtet werden.

8 Literaturverzeichnis

- 1 Abbott A, Rutter PR, Berkeley RC. The influence of ionic strength, pH and a protein layer on the interaction between *Streptococcus mutans* and glass surfaces. *J Gen Microbiol* 1983 Feb;129(2):439-45.
- 2 Ahn SJ, Kho HS, Lee SW, Nahm DS. Roles of salivary proteins in the adherence of oral streptococci to various orthodontic brackets. *J Dent Res* 2002 Jun;81(6):411-5.
- 3 Ahn SJ, Kho HS, Kim KK, Nahm DS. Adhesion of oral streptococci to experimental bracket pellicles from glandular saliva. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003 Aug;124(2):198-205.
- 4 Ahn SJ, Lim BS, Yang HC, Chang YI. Quantitative analysis of the adhesion of cariogenic streptococci to orthodontic metal brackets. *Angle Orthod* 2005 Jul;75(4):666-71.
- 5 Ahn SJ, Wen ZT, Brady LJ, Burne RA. Characteristics of biofilm formation by *Streptococcus mutans* in the presence of saliva. *Infect Immun* 2008 Sep;76(9):4259-68.
- 6 Al-Hashimi I, Levine MJ. Characterization of in vivo salivary-derived enamel pellicle. *Arch Oral Biol* 1989;34(4):289-95.
- 7 An YH, Friedmann RJ. Laboratory methods for studies of bacterial adhesion. *J Microbiol Methods* 1997;30:141-52.
- 8 An YH, Friedman RJ. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *J Biomed Mater Res* 1998;43(3):338-48.
- 9 Antonucci JM, Dickens SH, Fowler BO, Xu HH, McDonough WG. Chemistry of silanes: interfaces in dental polymers and composites. *J Res Natl Inst Stand Technol* 2005;(110):541-58.
- 10 Arvidsson A, Lofgren CD, Christersson CE, Glantz PO, Wennerberg A. Characterisation of structures in salivary secretion film formation. An experimental study with atomic force microscopy. *Biofouling* 2004 Jun;20(3):181-8.
- 11 Axelsson P. Diagnosis and risk prediction of dental caries. Illinois: Quintessence books; 2000.
- 12 Barszczewska-Rybarek IM. Structure-property relationships in dimethacrylate networks based on Bis-GMA, UDMA and TEGDMA. *Dent Mater* 2009 Sep;25(9):1082-9.
- 13 Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol* 2002 Mar;40(3):1001-9.
- 14 Beighton D, Brailsford S, Samaranayake LP, Brown JP, Ping FX, Grant-Mills D, et al. A multi-country comparison of caries-associated microflora in demographically diverse children. *Community Dent Health* 2004 Mar;21(1 Suppl):96-101.

- 15 Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dent Mater* 1997 Jul;13(4):258-69.
- 16 Bos R, van der Mei HC, Busscher HJ. Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions--its mechanisms and methods for study. *FEMS Microbiol Rev* 1999 Apr;23(2):179-230.
- 17 Bradshaw DJ, Marsh PD, Schilling KM, Cummins D. A modified chemostat system to study the ecology of oral biofilms. *J Appl Bacteriol* 1996 Feb;80(2):124-30.
- 18 Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson GK, Allison C. Role of *Fusobacterium nucleatum* and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. *Infect Immun* 1998 Oct;66(10):4729-32.
- 19 Bradshaw DJ, Walker JT, Burger B, Gangnus B, Marsh PD. In vitro modeling of bio-fouling of dental composite materials. *Methods Enzymol* 2001;337:416-25.
- 20 Buddecke E. Biochemische Grundlagen der Zahnmedizin. 1 edn. Berlin, New York: De Gruyter; 1981.
- 21 Buergers R, Rosentritt M, Handel G. Bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* to provisional fixed prosthodontic material. *J Prosthet Dent* 2007 Dec;98(6):461-9.
- 22 Buergers R, Schneider-Brachert W, Hahnel S, Rosentritt M, Handel G. Streptococcal adhesion to novel low-shrink silorane-based restorative. *Dent Mater* 2009 Feb;25(2):269-75.
- 23 Busscher HJ, Uyen MH, Weerkamp AH, Postma WJ, Arends J. Reversibility of adhesion of oral streptococci to solids. *FEMS Microbiol Lett* 1986;35:303-6.
- 24 Busscher HJ, Sjollema J, van der Mei HC. Relative importance of surface free energy as a measure of hydrophobicity in bacterial adhesion to solid surfaces. In: Doyle RJ, Rosenberg M, editors. *Microbial Cell Surface Hydrophobicity*. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1990. p. 335-59.
- 25 Busscher HJ, Doornbusch GI, van der Mei HC. Adhesion of mutans streptococci to glass with and without a salivary coating as studied in a parallel-plate flow chamber. *J Dent Res* 1992 Mar;71(3):491-500.
- 26 Busscher HJ, van der Mei HC. Use of flow chamber devices and image analysis methods to study microbial adhesion. *Methods Enzymol* 1995;253:455-77.
- 27 Carlen A, Borjesson AC, Nikdel K, Olsson J. Composition of pellicles formed in vivo on tooth surfaces in different parts of the dentition, and in vitro on hydroxyapatite. *Caries Res* 1998;32(6):447-55.
- 28 Carlen A, Nikdel K, Wennerberg A, Holmberg K, Olsson J. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. *Biomaterials* 2001 Mar;22(5):481-7.

- 29 Carlen A, Rudiger SG, Loggner I, Olsson J. Bacteria-binding plasma proteins in pellicles formed on hydroxyapatite in vitro and on teeth in vivo. *Oral Microbiol Immunol* 2003 Aug;18(4):203-7.
- 30 Christersson CE, Lindh L, Arnebrant T. Film-forming properties and viscosities of saliva substitutes and human whole saliva. *Eur J Oral Sci* 2000 Oct;108(5):418-25.
- 31 Courtney HS, Ofek I, Penfound T, Nizet V, Pence MA, Kreikemeyer B, et al. Relationship between expression of the family of M proteins and lipoteichoic acid to hydrophobicity and biofilm formation in *Streptococcus pyogenes*. *PLoS ONE* 2009;4(1):e4166.
- 32 de Almeida Pdel V, Gregio AM, Machado MA, de Lima AA, Azevedo LR. Saliva composition and functions: a comprehensive review. *J Contemp Dent Pract* 2008;9(3):72-80.
- 33 de Fries R., Mitsuhashi M. Quantification of mitogen induced human lymphocyte proliferation: comparison of alamarBlue assay to 3H-thymidine incorporation assay. *J Clin Lab Anal* 1995;9(2):89-95.
- 34 De Jong MH, Van der Hoeven JS. The growth of oral bacteria on saliva. *J Dent Res* 1987 Feb;66(2):498-505.
- 35 Deimling D, Hannig C, Hoth-Hannig W, Schmitz P, Schulte-Monting J, Hannig M. Non-destructive visualisation of protective proteins in the in situ pellicle. *Clin Oral Investig* 2007 Sep;11(3):211-6.
- 36 Diaz PI, Chalmers NI, Rickard AH, Kong C, Milburn CL, Palmer RJ, Jr., et al. Molecular characterization of subject-specific oral microflora during initial colonization of enamel. *Appl Environ Microbiol* 2006 Apr;72(4):2837-48.
- 37 Dibdin G, Wimpenny J. Steady-state biofilm: practical and theoretical models. *Methods Enzymol* 1999;310:296-322.
- 38 Douglas CW. Bacterial-protein interactions in the oral cavity. *Adv Dent Res* 1994 Jul;8(2):254-62.
- 39 Edgar M, Dawes C, O'Mullane D. Saliva and oral health. 3 edn. London: BDJ Books; 2004.
- 40 Edgar WM. Saliva and dental health. Clinical implications of saliva: report of a consensus meeting. *Br Dent J* 1990 Aug 11;169(3-4):96-8.
- 41 Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J* 1992 Apr 25;172(8):305-12.
- 42 Edgerton M, Lo SE, Scannapieco FA. Experimental salivary pellicles formed on titanium surfaces mediate adhesion of streptococci. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996 Jul;11(4):443-9.
- 43 Egland PG, Palmer RJ, Jr., Kolenbrander PE. Interspecies communication in *Streptococcus gordonii*-*Veillonella atypica* biofilms: signaling in flow conditions requires juxtaposition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 Nov 30;101(48):16917-22.

- 44 Eick JD, Smith RE, Pinzino CS, Kostoryz EL. Stability of silorane dental monomers in aqueous systems. *J Dent* 2006 Jul;34(6):405-10.
- 45 Eick S, Glockmann E, Brandl B, Pfister W. Adherence of *Streptococcus mutans* to various restorative materials in a continuous flow system. *J Oral Rehabil* 2004 Mar;31(3):278-85.
- 46 Eliades T, Eliades G, Brantley WA. Microbial attachment on orthodontic appliances: I. Wettability and early pellicle formation on bracket materials. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1995 Oct;108(4):351-60.
- 47 Faltermeier A, Buergers R, Rosentritt M. Bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* to orthodontic adhesives with various filler-volume fractions. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007 Dec;132(6):728.
- 48 Faltermeier A, Buergers R, Rosentritt M. Bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* to esthetic bracket materials. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008 Apr;133(4 Suppl):S99-103.
- 49 Ferracane JL. Current trends in dental composites. *Crit Rev Oral Biol Med* 1995;6(4):302-18.
- 50 Fields RD, Lancaster MV. Dual-attribute continuous monitoring of cell proliferation/cytotoxicity. *Am Biotechnol Lab* 1993 Mar;11(4):48-50.
- 51 Flemming HC, Neu TR, Wozniak DJ. The EPS matrix: the "house of biofilm cells". *J Bacteriol* 2007 Nov;189(22):7945-7.
- 52 Friedl KH, Hiller KA, Schmalz G. Placement and replacement of composite restorations in Germany. *Oper Dent* 1995 Jan;20(1):34-8.
- 53 Gaines S, James TC, Folan M, Baird AW, O'Farrelly C. A novel spectrofluorometric microassay for *Streptococcus mutans* adherence to hydroxylapatite. *J Microbiol Methods* 2003 Sep;54(3):315-23.
- 54 Garcia-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc* 2008 May;139 Suppl:25S-34S.
- 55 Ge J, Catt DM, Gregory RL. *Streptococcus mutans* surface alpha-enolase binds salivary mucin MG2 and human plasminogen. *Infect Immun* 2004 Nov;72(11):6748-52.
- 56 Ge Y, Caufield PW, Fisch GS, Li Y. *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* colonization correlated with caries experience in children. *Caries Res* 2008;42(6):444-8.
- 57 Gibbons RJ, Cohen L, Hay DI. Strains of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* attach to different pellicle receptors. *Infect Immun* 1986 May;52(2):555-61.
- 58 Gibbons RJ, Hay DI. Human salivary acidic proline-rich proteins and statherin promote the attachment of *Actinomyces viscosus* LY7 to apatitic surfaces. *Infect Immun* 1988 Feb;56(2):439-45.

- 59 Gibbons RJ, Hay DI, Cisar JO, Clark WB. Adsorbed salivary proline-rich protein 1 and statherin: receptors for type 1 fimbriae of *Actinomyces viscosus* T14V-J1 on apatitic surfaces. *Infect Immun* 1988 Nov;56(11):2990-3.
- 60 Gibbons RJ. Bacterial adhesion to oral tissues: a model for infectious diseases. *J Dent Res* 1989 May;68(5):750-60.
- 61 Goobes G, Goobes R, Shaw WJ, Gibson JM, Long JR, Raghunathan V, et al. The structure, dynamics, and energetics of protein adsorption-lessons learned from adsorption of statherin to hydroxyapatite. *Magn Reson Chem* 2008 Jan 3;45(S1):S32-S47.
- 62 Gray JJ. The interaction of proteins with solid surfaces. *Curr Opin Struct Biol* 2004 Feb;14(1):110-5.
- 63 Grivet M, Morrier JJ, Souchier C, Barsotti O. Automatic enumeration of adherent streptococci or actinomyces on dental alloy by fluorescence image analysis. *J Microbiol Methods* 1999 Oct;38(1-2):33-42.
- 64 Grivet M, Morrier JJ, Benay G, Barsotti O. Effect of hydrophobicity on in vitro streptococcal adhesion to dental alloys. *J Mater Sci Mater Med* 2000 Oct;11(10):637-42.
- 65 Groger G, Rosentritt M, Behr M, Schroder J, Handel G. Dental resin materials in vivo - TEM results after one year: a pilot study. *J Mater Sci Mater Med* 2006 Sep;17(9):825-8.
- 66 Gysau D. Füllstoffe: Grundlagen und Anwendungen. 2 edn. Vincentz Network GmbH & Co KG; 2007.
- 67 Hahnel S, Rosentritt M, Handel G, Buergers R. Influence of saliva substitute films on initial *Streptococcus mutans* adhesion to enamel and dental substrata. *J Dent* 2008 Dec;36(12):977-83.
- 68 Hahnel S, Rosentritt M, Buergers R, Handel G. Surface properties and in vitro *Streptococcus mutans* adhesion to dental resin polymers. *J Mater Sci Mater Med* 2008 Jul;19(7):2619-27.
- 69 Hahnel S, Rosentritt M, Buergers R, Handel G. Adhesion of *Streptococcus mutans* NCTC 10449 to artificial teeth: an in vitro study. *J Prosthet Dent* 2008 Oct;100(4):309-15.
- 70 Hahnel S, Rosentritt M, Handel G, Buergers R. Surface characterization of dental ceramics and initial streptococcal adhesion in vitro. *Dent Mater* 2009 Mar 9.
- 71 Hamilton IR, Bowden GH. Oral microbiology. In: Lederberg J, editor. *Encyclopedia of Microbiology*. San Diego, CA: Academic Press; 2000. p. 466-80.
- 72 Hannig C, Hannig M, Attin T. Enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur J Oral Sci* 2005 Feb;113(1):2-13.
- 73 Hannig C, Hannig M. The oral cavity-a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man. *Clin Oral Investig* 2009 Jan 10.
- 74 Hannig M. Transmission electron microscopic study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials. *Eur J Oral Sci* 1997 Oct;105(5 Pt 1):422-33.

- 75 Hannig M. Transmission electron microscopy of early plaque formation on dental materials in vivo. *Eur J Oral Sci* 1999 Feb;107(1):55-64.
- 76 Hannig M. Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intra-oral sites during a 24-h period. *Clin Oral Investig* 1999 Jun;3(2):88-95.
- 77 Hannig M, Fiebiger M, Guntzer M, Dobert A, Zimehl R, Nekrashevych Y. Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. *Arch Oral Biol* 2004 Nov;49(11):903-10.
- 78 Hannig M, Dobert A, Stigler R, Muller U, Prokhorova SA. Initial salivary pellicle formation on solid substrates studied by AFM. *J Nanosci Nanotechnol* 2004 May;4(5):532-8.
- 79 Hannig M, Joiner A. The structure, function and properties of the acquired pellicle. *Monogr Oral Sci* 2006;19:29-64.
- 80 Hannig M, Kriener L, Hoth-Hannig W, Becker-Willinger C, Schmidt H. Influence of nanocomposite surface coating on biofilm formation in situ. *J Nanosci Nanotechnol* 2007 Dec;7(12):4642-8.
- 81 Hannig M, Hannig C. Does a biofilm free of bacteria, exist in situ? *J Parodontol Implantol Orale* 2007;26:187-200.
- 82 Hansel C, Leyhausen G, Mai UE, Geurtsen W. Effects of various resin composite (co)monomers and extracts on two caries-associated micro-organisms in vitro. *J Dent Res* 1998 Jan;77(1):60-7.
- 83 Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. 4 edn. 2006.
- 84 Hick C. Ernährung, Verdauungstrakt, Leber. In: Hick C, Hick A, editors. *Physiologie*. 4 edn. München: Urban & Fischer; 2002. p. 159-84.
- 85 Hogg SD, Lightfoot I. Interaction of streptococcal lipoteichoic acid with artificial tooth pellicle. *Arch Oral Biol* 1989;34(8):615-20.
- 86 Holsinger FC, Bui DT. Anatomy, Function, and Evaluation of the Salivary Glands. In: Springer, editor. *Salivary Gland Disorders*. Berlin; Heidelberg: 2007. p. 2-14.
- 87 Hosoda H, Yamada T, Inokoshi S. SEM and elemental analysis of composite resins. *J Prosthet Dent* 1990 Dec;64(6):669-76.
- 88 Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent* 2001 Feb;85(2):162-9.
- 89 Iacono VJ, MacKay BJ, DiRienzo S, Pollock JJ. Selective antibacterial properties of lysozyme for oral microorganisms. *Infect Immun* 1980 Aug;29(2):623-32.
- 90 Ichikawa T, Hirota K, Kanitani H, Miyake Y, Matsumoto N. In vitro adherence of *Streptococcus constellatus* to dense hydroxyapatite and titanium. *J Oral Rehabil* 1998 Feb;25(2):125-7.

- 91 Ishida H, Koenig JL. The reinforcement mechanism of fiber-glass reinforced plastics under wet conditions: A review. *Polymer Engineering and Science* 1978;128-45.
- 92 Janda R. Verblendkunststoffe - Materialien und Leistungsfähigkeit. *Quintessenz Zahntech* 1996;22:1003-15.
- 93 Jendresen MD, Glantz PO. Clinical adhesiveness of the tooth surface. *Acta Odontol Scand* 1980;38(6):379-83.
- 94 Johnsson M, Levine MJ, Nancollas GH. Hydroxyapatite binding domains in salivary proteins. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993;4(3-4):371-8.
- 95 Karabela MM, Sideridou ID. Effect of the structure of silane coupling agent on sorption characteristics of solvents by dental resin-nanocomposites. *Dent Mater* 2008 Dec;24(12):1631-9.
- 96 Karmaker A, Prasad A, Sarkar NK. Characterization of adsorbed silane on fillers used in dental composite restoratives and its effect on composite properties. *J Mater Sci Mater Med* 2007 Jun;18(6):1157-62.
- 97 Katsikogianni M, Missirlis YF. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur Cell Mater* 2004 Dec 7;8:37-57.
- 98 Kawai K, Urano M. Adherence of plaque components to different restorative materials. *Oper Dent* 2001 Jul;26(4):396-400.
- 99 Kawashima M, Hanada N, Hamada T, Tagami J, Senpuku H. Real-time interaction of oral streptococci with human salivary components. *Oral Microbiol Immunol* 2003 Aug;18(4):220-5.
- 100 Kenneth JA. Phillips' Science of Dental Materials. Oxford: Elsevier; 1991.
- 101 Kinnari TJ, Esteban J, Martin-de-Hijas NZ, Sanchez-Munoz O, Sanchez-Salcedo S, Collilla M, et al. Influence of surface porosity and pH on bacterial adherence to hydroxyapatite and biphasic calcium phosphate bioceramics. *J Med Microbiol* 2009 Jan;58(Pt 1):132-7.
- 102 Klimek J, Hellwig E. Kariesätiologie und -diagnose. In: Heidemann D, editor. *Kariologie und Füllungstherapie*. 4 edn. München, Wien: Urban & Fischer; 1999. p. 1-45.
- 103 Kolenbrander PE. Surface recognition among oral bacteria: multigeneric coaggregations and their mediators. *Crit Rev Microbiol* 1989;17(2):137-59.
- 104 Kolenbrander PE, Ganeshkumar N, Cassels FJ, Hughes CV. Coaggregation: specific adherence among human oral plaque bacteria. *FASEB J* 1993 Mar;7(5):406-13.
- 105 Kolenbrander PE, London J. Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence. *J Bacteriol* 1993 Jun;175(11):3247-52.

- 106 Kolenbrander PE, Parrish KD, Andersen RN, Greenberg EP. Intergeneric coaggregation of oral *Treponema* spp. with *Fusobacterium* spp. and intrageneric coaggregation among *Fusobacterium* spp. *Infect Immun* 1995 Dec;63(12):4584-8.
- 107 Kolenbrander PE, Andersen RN, Kazmerzak K, Wu R, Palmer RJ, Jr. Spatial organization of oral bacteria in biofilms. *Methods Enzymol* 1999;310:322-32.
- 108 Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol* 2000;54:413-37.
- 109 Kolenbrander PE, Andersen RN, Blehert DS, Egland PG, Foster JS, Palmer RJ, Jr. Communication among oral bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2002 Sep;66(3):486-505, table.
- 110 Kolenbrander PE, Palmer RJ, Jr., Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontol* 2000 2006;42:47-79.
- 111 Krämer A, Netuschil L, Simonis A. Plaqueanlagerung an verschiedenen Verblendkunststoffen. *Dtsch Zahnärztl Z* 1990;45:482-4.
- 112 Lamkin MS, Arancillo AA, Oppenheim FG. Temporal and compositional characteristics of salivary protein adsorption to hydroxyapatite. *J Dent Res* 1996 Feb;75(2):803-8.
- 113 Lee SF, Li YH, Bowden GH. Detachment of *Streptococcus mutans* biofilm cells by an endogenous enzymatic activity. *Infect Immun* 1996 Mar;64(3):1035-8.
- 114 Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG. Saliva and dental pellicle--a review. *Adv Dent Res* 2000 Dec;14:22-8.
- 115 Levine MJ. Development of artificial salivas. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993;4(3-4):279-86.
- 116 Li J, Helmerhorst EJ, Corley RB, Luus LE, Troxler RF, Oppenheim FG. Characterization of the immunologic responses to human *in vivo* acquired enamel pellicle as a novel means to investigate its composition. *Oral Microbiol Immunol* 2003 Jun;18(3):183-91.
- 117 Li J, Helmerhorst EJ, Troxler RF, Oppenheim FG. Identification of *in vivo* pellicle constituents by analysis of serum immune responses. *J Dent Res* 2004 Jan;83(1):60-4.
- 118 Li J, Helmerhorst EJ, Leone CW, Troxler RF, Yaskell T, Haffajee AD, et al. Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *J Appl Microbiol* 2004;97(6):1311-8.
- 119 Liljemark WF, Fenner LJ, Bloomquist CG. *In vivo* colonization of salivary pellicle by *Haemophilus*, *Actinomyces* and *Streptococcus* species. *Caries Res* 1986;20(6):481-97.
- 120 Lindh L, Arnebrandt T, Isberg PE, Glantz PO. Concentration dependence of adsorption from human whole resting saliva at solid/liquid interfaces: an ellipsometric study. *Biofouling* 1999;14:189-96.
- 121 Lindh L. On the adsorption behaviour of saliva and purified salivary proteins at solid/liquid interfaces. *Swed Dent J Suppl* 2002;(152):1-57.

- 122 Lindh L, Glantz PO, Stromberg N, Arnebrandt T. On the adsorption of human acidic Proline-rich proteins (PRP-1 and PRP-3) and statherin at solid/liquid interfaces. *Biofouling* 2002;18:87-94.
- 123 Logan RP, Robins A, Turner GA, Cockayne A, Borriello SP, Hawkey CJ. A novel flow cytometric assay for quantitating adherence of *Helicobacter pylori* to gastric epithelial cells. *J Immunol Methods* 1998 Apr 1;213(1):19-30.
- 124 Lumikari M, Tenovuo J. Effects of lysozyme-thiocyanate combinations on the viability and lactic acid production of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus rattus*. *Acta Odontol Scand* 1991 Jun;49(3):175-81.
- 125 Mabboux F, Ponsonnet L, Morrier JJ, Jaffrezic N, Barsotti O. Surface free energy and bacterial retention to saliva-coated dental implant materials--an in vitro study. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2004 Dec 25;39(4):199-205.
- 126 Marchant S, Brailsford SR, Twomey AC, Roberts GJ, Beighton D. The predominant microflora of nursing caries lesions. *Caries Res* 2001 Nov;35(6):397-406.
- 127 Marsh P, Martin M. Oral microbiology. 4 edn. Oxford: Wright; 1999.
- 128 Marsh P, Martin MV. Orale Mikrobiologie. Stuttgart: Thieme-Verlag; 2003.
- 129 Marsh PD, Bradshaw DJ. Dental plaque as a biofilm. *J Ind Microbiol* 1995 Sep;15(3):169-75.
- 130 Marsh PD, Bowden GHW. Microbial community interactions in biofilms. In: Allison DG, Gilbert P, Lappin-Scott HM, Wilson M, editors. *Community Structure and Cooperation in Biofilms*. 59 edn. Cambridge: Cambridge University Press: Society for General Microbiology Symposium; 2000. p. 167-98.
- 131 Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res* 2004 May;38(3):204-11.
- 132 Masouras K, Akhtar R, Watts DC, Silikas N. Effect of filler size and shape on local nanoindentation modulus of resin-composites. *J Mater Sci Mater Med* 2008 Dec;19(12):3561-6.
- 133 Matinlinna JP, Lassila LV, Ozcan M, Yli-Urpo A, Vallittu PK. An introduction to silanes and their clinical applications in dentistry. *Int J Prosthodont* 2004 Mar;17(2):155-64.
- 134 Mayhall CW, Butler WT. The carbohydrate composition of experimental salivary pellicles. *J Oral Pathol* 1976 Nov;5(6):358-70.
- 135 Mergenhagen SE, Sandberg AL, Chassy BM, Brennan MJ, Yeung MK, Donkersloot JA, et al. Molecular basis of bacterial adhesion in the oral cavity. *Rev Infect Dis* 1987 Sep;9 Suppl 5:S467-S474.
- 136 Mese H, Matsuo R. Salivary secretion, taste and hyposalivation. *J Oral Rehabil* 2007 Oct;34(10):711-23.
- 137 Mohsen NM, Craig RG. Effect of silanation of fillers on their dispersability by monomer systems. *J Oral Rehabil* 1995 Mar;22(3):183-9.

- 138 Morgan TD, Wilson M. The effects of surface roughness and type of denture acrylic on biofilm formation by *Streptococcus oralis* in a constant depth film fermentor. *J Appl Microbiol* 2001 Jul;91(1):47-53.
- 139 Morge S, Adamczak E, Linden LA. Variation in human salivary pellicle formation on biomaterials during the day. *Arch Oral Biol* 1989;34(8):669-74.
- 140 Muller R, Groger G, Hiller KA, Schmalz G, Ruhl S. Fluorescence-based bacterial overlay method for simultaneous *in situ* quantification of surface-attached bacteria. *Appl Environ Microbiol* 2007 Apr;73(8):2653-60.
- 141 Murer H, Berger EG. Magen-Darm-Trakt. In: Deetjen P, Speckmann EJ, Hescheler J, editors. *Physiologie*. 4 edn. München, Jena: Urban & Fischer; 2005. p. 592-632.
- 142 Mylonakis E, Calderwood SB. Infective endocarditis in adults. *N Engl J Med* 2001 Nov 1;345(18):1318-30.
- 143 Nagler RM. Salivary glands and the aging process: mechanistic aspects, health-status and medicinal-efficacy monitoring. *Biogerontology* 2004;5(4):223-33.
- 144 Nakayama GR, Caton MC, Nova MP, Parandoosh Z. Assessment of the Alamar Blue assay for cellular growth and viability *in vitro*. *J Immunol Methods* 1997 May 26;204(2):205-8.
- 145 Norde W. Adsorption of proteins at solid-liquid interfaces. *Cells Mater* 1995;5:97-112.
- 146 Nyvad B, Fejerskov O. Transmission electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces *in vivo*. *Scand J Dent Res* 1987 Aug;95(4):297-307.
- 147 Nyvad B, Fejerskov O. Scanning electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces *in vivo*. *Scand J Dent Res* 1987 Aug;95(4):287-96.
- 148 Nyvad B, Kilian M. Comparison of the initial streptococcal microflora on dental enamel in caries-active and in caries-inactive individuals. *Caries Res* 1990;24(4):267-72.
- 149 O'Brien J, Wilson I, Orton T, Pognan F. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *Eur J Biochem* 2000 Sep;267(17):5421-6.
- 150 Okada A, Nikaido T, Ikeda M, Okada K, Yamauchi J, Foxton RM, et al. Inhibition of biofilm formation using newly developed coating materials with self-cleaning properties. *Dent Mater J* 2008 Jul;27(4):565-72.
- 151 Owens DK, Wendt RC. Estimation of the surface free energy of polymers. *J Appl Polym Sci* 1969;13:1741-7.
- 152 Pedersen AM, Bardow A, Jensen SB, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Dis* 2002 May;8(3):117-29.
- 153 Peutzfeldt A. Resin composites in dentistry: the monomer systems. *Eur J Oral Sci* 1997 Apr;105(2):97-116.

- 154 Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet* 2005 Nov 19;366(9499):1809-20.
- 155 Powers JM, Fan PL, Marcotte M. In vitro accelerated aging of composites and a sealant. *J Dent Res* 1981 Sep;60(9):1672-7.
- 156 Pratt-Terpstra IH, Weerkamp AH, Busscher HJ. Adhesion of oral streptococci from a flowing suspension to uncoated and albumin-coated surfaces. *J Gen Microbiol* 1987 Nov;133(11):3199-206.
- 157 Pratt-Terpstra IH, Weerkamp AH, Busscher HJ. Microbial factors in a thermodynamic approach of oral streptococcal adhesion to solid substrata. *J Colloid Interface Sci* 1988;129:568-74.
- 158 Pratt-Terpstra IH, Weerkamp AH, Busscher HJ. The effects of pellicle formation on streptococcal adhesion to human enamel and artificial substrata with various surface free-energies. *J Dent Res* 1989 Mar;68(3):463-7.
- 159 Pratten J, Smith AW, Wilson M. Response of single species biofilms and microcosm dental plaques to pulsing with chlorhexidine. *J Antimicrob Chemother* 1998 Oct;42(4):453-9.
- 160 Priester JH, Horst AM, Van de Werfhorst LC, Saleta JL, Mertes LA, Holden PA. Enhanced visualization of microbial biofilms by staining and environmental scanning electron microscopy. *J Microbiol Methods* 2007 Mar;68(3):577-87.
- 161 Quirynen M, Bollen CM. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J Clin Periodontol* 1995 Jan;22(1):1-14.
- 162 Quirynen M, Bollen CM, Papaioannou W, Van EJ, van SD. The influence of titanium abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term observations. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996 Mar;11(2):169-78.
- 163 Rantonen PJ, Meurman JH. Viscosity of whole saliva. *Acta Odontol Scand* 1998 Aug;56(4):210-4.
- 164 Rantonen PJ, Meurman JH. Correlations between total protein, lysozyme, immunoglobulins, amylase, and albumin in stimulated whole saliva during daytime. *Acta Odontol Scand* 2000 Aug;58(4):160-5.
- 165 Reynolds EC, Wong A. Effect of adsorbed protein on hydroxyapatite zeta potential and *Streptococcus mutans* adherence. *Infect Immun* 1983 Mar;39(3):1285-90.
- 166 Riss T, Moravec R. Simplifying Cytotoxicity Screening. *Promega Notes* 2003;83:10-3.
- 167 Rogers JD, Haase EM, Brown AE, Douglas CW, Gwynn JP, Scannapieco FA. Identification and analysis of a gene (abpA) encoding a major amylase-binding protein in *Streptococcus gordonii*. *Microbiology* 1998 May;144 (Pt 5):1223-33.
- 168 Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. *Microbes Infect* 2000 Nov;2(13):1599-607.

- 169 Rosentritt M, Hahnel S, Groger G, Muhlfriedel B, Burgers R, Handel G. Adhesion of *Streptococcus mutans* to various dental materials in a laminar flow chamber system. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008 Jul;86(1):36-44.
- 170 Rølla G, Rykke M. Evidence for presence of micelle-like protein globules in human saliva. *Colloids Surf B Biointerfaces* 1994;3:177-82.
- 171 Rudney JD, Krig MA, Neuvar EK, Soberay AH, Iverson L. Antimicrobial proteins in human unstimulated whole saliva in relation to each other, and to measures of health status, dental plaque accumulation and composition. *Arch Oral Biol* 1991;36(7):497-506.
- 172 Rykke M, Sonju T, Skjorland K, Rolla G. Protein adsorption to hydroxyapatite and to calcium fluoride in vitro and amino acid analyses of pellicle formed on normal enamel and on calcium-fluoride-covered enamel in vivo. *Acta Odontol Scand* 1989 Aug;47(4):245-51.
- 173 Rykke M, Smistadt G, Rølla G, Karlsen J. Micelle-like structures in human saliva. *Colloids Surf B Biointerfaces* 1995;4:33-40.
- 174 Sardin S, Morrier JJ, Benay G, Barsotti O. In vitro streptococcal adherence on prosthetic and implant materials. Interactions with physicochemical surface properties. *J Oral Rehabil* 2004 Feb;31(2):140-8.
- 175 Satou J, Fukunaga A, Satou N, Shintani H, Okuda K. Streptococcal adherence on various restorative materials. *J Dent Res* 1988 Mar;67(3):588-91.
- 176 Satou J, Fukunaga A, Morikawa A, Matsumae I, Satou N, Shintani H. Streptococcal adherence to uncoated and saliva-coated restoratives. *J Oral Rehabil* 1991 Sep;18(5):421-9.
- 177 Satou N, Morikawa A, Ohmoto K. Adhesion of streptococci to saliva-coated and uncoated composite-based resins. *J Materials Science* 1996;7:749-52.
- 178 Scannapieco FA, Torres GI, Levine MJ. Salivary amylase promotes adhesion of oral streptococci to hydroxyapatite. *J Dent Res* 1995 Jul;74(7):1360-6.
- 179 Scheie AA. Mechanisms of dental plaque formation. *Adv Dent Res* 1994 Jul;8(2):246-53.
- 180 Schierholz JM, Beuth J, Konig D, Nurnberger A, Pulverer G. Antimicrobial substances and effects on sessile bacteria. *Zentralbl Bakteriol* 1999 Apr;289(2):165-77.
- 181 Schmalz G, Arenholt-Bindslev D. Biokompatibilität zahnärztlicher Werkstoffe. 1 edn. München: Urban & Fischer; 2005.
- 182 Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet* 2007 Jan 6;369(9555):51-9.
- 183 Shahal Y, Steinberg D, Hirschfeld Z, Bronshteyn M, Kopolovic K. In vitro bacterial adherence onto pellicle-coated aesthetic restorative materials. *J Oral Rehabil* 1998 Jan;25(1):52-8.

- 184 Shaw JH. Causes and control of dental caries. *N Engl J Med* 1987 Oct 15;317(16):996-1004.
- 185 Shen S, Samaranayake LP, Yip HK. In vitro growth, acidogenicity and cariogenicity of predominant human root caries flora. *J Dent* 2004 Nov;32(8):667-78.
- 186 Sipahi C, Anil N, Bayramli E. The effect of acquired salivary pellicle on the surface free energy and wettability of different denture base materials. *J Dent* 2001 Mar;29(3):197-204.
- 187 Skjorland KK, Rykke M, Sonju T. Rate of pellicle formation in vivo. *Acta Odontol Scand* 1995 Dec;53(6):358-62.
- 188 Slomiany BL, Murty VL, Zdebska E, Slomiany A, Gwozdzinski K, Mandel ID. Tooth surface-pellicle lipids and their role in the protection of dental enamel against lactic-acid diffusion in man. *Arch Oral Biol* 1986;31(3):187-91.
- 189 Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000* 2002;28:12-55.
- 190 Soderholm KJ. Filler leachability during water storage of six composite materials. *Scand J Dent Res* 1990 Feb;98(1):82-8.
- 191 Sonju T, Glantz PO. Chemical composition of salivary integuments formed in vivo on solids with some established surface characteristics. *Arch Oral Biol* 1975 Oct;20(10):687-91.
- 192 Spahl W, Budzikiewicz H, Geurtzen W. Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. *J Dent* 1998 Mar;26(2):137-45.
- 193 Steinberg D, Eyal S. Initial biofilm formation of *Streptococcus sobrinus* on various orthodontics appliances. *J Oral Rehabil* 2004 Nov;31(11):1041-5.
- 194 Suljak JP, Reid G, Wood SM, McConnell RJ, van der Mei HC, Busscher HJ. Bacterial adhesion to dental amalgam and three resin composites. *J Dent* 1995 Jun;23(3):171-6.
- 195 Surette MG, Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Vibrio harveyi*: a new family of genes responsible for autoinducer production. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999 Feb 16;96(4):1639-44.
- 196 Svensater G, Borgstrom M, Bowden GH, Edwardsson S. The acid-tolerant microbiota associated with plaque from initial caries and healthy tooth surfaces. *Caries Res* 2003 Nov;37(6):395-403.
- 197 Sweet SP, MacFarlane TW, Samaranayake LP. An in vitro method to study the adherence of bacteria to saliva-treated tooth enamel sections. *Oral Microbiol Immunol* 1990 Feb;5(1):24-8.
- 198 Tanner J, Vallittu PK, Soderling E. Adherence of *Streptococcus mutans* to an E-glass fiber-reinforced composite and conventional restorative materials used in prosthetic dentistry. *J Biomed Mater Res* 2000 Feb;49(2):250-6.

- 199 Tanner J, Carlen A, Soderling E, Vallittu PK. Adsorption of parotid saliva proteins and adhesion of *Streptococcus mutans* ATCC 21752 to dental fiber-reinforced composites. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2003 Jul;66(1):391-8.
- 200 Taylor RL, Verran J, Lees GC, Ward AJ. The influence of substratum topography on bacterial adhesion to polymethyl methacrylate. *J Mater Sci Mater Med* 1998 Jan;9(1):17-22.
- 201 Tenovuo J. Clinical applications of antimicrobial host proteins lactoperoxidase, lysozyme and lactoferrin in xerostomia: efficacy and safety. *Oral Dis* 2002 Jan;8(1):23-9.
- 202 Teughels W, Van AN, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res* 2006 Oct;17 Suppl 2:68-81.
- 203 Tsang CS, Ng H, McMillan AS. Antifungal susceptibility of *Candida albicans* biofilms on titanium discs with different surface roughness. *Clin Oral Investig* 2007 Dec;11(4):361-8.
- 204 Turner RJ, Sugiya H. Understanding salivary fluid and protein secretion. *Oral Dis* 2002 Jan;8(1):3-11.
- 205 Twigg RS. Oxidation-Reduktion Aspects of Resazurin. *Nature* 1945;155:401-2.
- 206 Vacca Smith AM, Bowen WH. The effects of milk and kappa-casein on salivary pellicle formed on hydroxyapatite discs in situ. *Caries Res* 2000 Jan;34(1):88-93.
- 207 van der Mei HC, Rustema-Abbing M, de VJ, Busscher HJ. Bond strengthening in oral bacterial adhesion to salivary conditioning films. *Appl Environ Microbiol* 2008 Sep;74(17):5511-5.
- 208 van Loosdrecht MC, Lyklema J, Norde W, Schraa G, Zehnder AJ. The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. *Appl Environ Microbiol* 1987 Aug;53(8):1893-7.
- 209 Van Noort R. Introduction to Dental Materials. 2 edn. Mosby; 2009.
- 210 van Oss CJ. Long-range and short-range mechanisms of hydrophobic attraction and hydrophilic repulsion in specific and aspecific interactions. *J Mol Recognit* 2003 Jul;16(4):177-90.
- 211 van DJ, Herkstroter F, Busscher H, Weerkamp A, Jansen H, Arends J. Surface-free energy and bacterial adhesion. An in vivo study in beagle dogs. *J Clin Periodontol* 1987 May;14(5):300-4.
- 212 Vassilakos N, Rundegren J, Arnebrant T, Glantz PO. Adsorption from salivary fractions at solid/liquid and air/liquid interfaces. *Arch Oral Biol* 1992;37(7):549-57.
- 213 Vassilakos N, Arnebrant T, Glantz PO. An in vitro study of salivary film formation at solid/liquid interfaces. *Scand J Dent Res* 1993 Jun;101(3):133-7.
- 214 Vaupel P. Funktionen des Magen-Darm-Trakts. In: Schmidt RF, Lang F, editors. *Physiologie des Menschen*. 30 edn. Berlin, Heidelberg: Springer; 2007. p. 867-72.

- 215 Vitkov L, Hannig M, Nekrashevych Y, Krautgartner WD. Supramolecular pellicle precursors. *Eur J Oral Sci* 2004 Aug;112(4):320-5.
- 216 Voytik-Harbin SL, Brightman AO, Waisner B, Lamar CH, Badylak SF. Application and evaluation of the alamarBlue assay for cell growth and survival of fibroblasts. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 1998 Mar;34(3):239-46.
- 217 Wacker Chemie AG. GENIOSIL® - Organofunktionelle Silane von WACKER. 2008.
- 218 Weerkamp AH, van der Mei HC, Busscher HJ. The surface free energy of oral streptococci after being coated with saliva and its relation to adhesion in the mouth. *J Dent Res* 1985 Oct;64(10):1204-10.
- 219 Weerkamp AH, Uyen HM, Busscher HJ. Effect of zeta potential and surface energy on bacterial adhesion to uncoated and saliva-coated human enamel and dentin. *J Dent Res* 1988 Dec;67(12):1483-7.
- 220 Weiger R, Decker EM, Krastl G, Brecx M. Deposition and retention of vital and dead *Streptococcus sanguinis* cells on glass surfaces in a flow-chamber system. *Arch Oral Biol* 1999 Aug;44(8):621-8.
- 221 Weinmann W, Thalacker C, Guggenberger R. Siloranes in dental composites. *Dent Mater* 2005 Jan;21(1):68-74.
- 222 Weseler AR, Bast A. Etablierte Arzneistoffe als Antioxidantien. *Apotheken-Magazin* 2009 Apr;7-14.
- 223 Whitehead KA, Rogers D, Colligon J, Wright C, Verran J. Use of the atomic force microscope to determine the effect of substratum surface topography on the ease of bacterial removal. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2006 Aug 1;51(1):44-53.
- 224 Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE. Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1996;50:513-52.
- 225 Willems G, Lambrechts P, Braem M, Vanherle G. Composite resins in the 21st century. *Quintessence Int* 1993 Sep;24(9):641-58.
- 226 Willershausen B, Callaway A, Ernst CP, Stender E. The influence of oral bacteria on the surfaces of resin-based dental restorative materials--an in vitro study. *Int Dent J* 1999 Aug;49(4):231-9.
- 227 Wilson M. Use of constant depth film fermentor in studies of biofilms of oral bacteria. *Methods Enzymol* 1999;310:264-79.
- 228 Yao Y, Grogan J, Zehnder M, Lendenmann U, Nam B, Wu Z, et al. Compositional analysis of human acquired enamel pellicle by mass spectrometry. *Arch Oral Biol* 2001 Apr;46(4):293-303.
- 229 Yao Y, Berg EA, Costello CE, Troxler RF, Oppenheim FG. Identification of protein components in human acquired enamel pellicle and whole saliva using novel proteomics approaches. *J Biol Chem* 2003 Feb 14;278(7):5300-8.

- 230 Zalkind MM, Keisar O, Ever-Hadani P, Grinberg R, Sela MN. Accumulation of *Streptococcus mutans* on light-cured composites and amalgam: an in vitro study. *J Esthet Dent* 1998;10(4):187-90.
- 231 Zinn MS, Kirkegaard RD, Palmer RJ, Jr., White DC. Laminar flow chamber for continuous monitoring of biofilm formation and succession. *Methods Enzymol* 1999;310:224-32.

9 Danksagung

An dieser Stelle sei den Personen herzlich gedankt, die die vorliegende Arbeit ermöglicht und unterstützt haben:

Ganz herzlich möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. dent. Gerhard Handel für die Überlassung des Themas, sowie die großzügige Bereitstellung von Arbeitsmitteln und des biochemischen Labors der Poliklinik für zahnärztliche Prothetik bedanken.

Herrn PD Dr. med. dent. Ralf Bürgers gebührt mein besonderer Dank für die freundschaftliche und wertvolle Zusammenarbeit bei der Erstellung der vorliegenden Arbeit.

Mein Dank gilt zudem Frau MTA Gerlinde Held für die umfangreiche Unterstützung bei der labortechnischen Arbeit.

Frau Dipl. Ing. Sybille Schneider-Feyrer danke ich für die freundliche und umfassende Einweisung in die Bedienung des Rasterelektronenmikroskops.

Ein besonderes Dankeschön gilt Tanja Brand, die mir in jeder Phase meiner Arbeit hilfreich zur Seite stand, mich bei Motivationseinbrüchen ermutigte und wie immer bedingungslos unterstützt.

Zuletzt danke ich meinen Eltern, auf deren Unterstützung ich immer zählen kann.

Matthias Prudil

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Matthias Prudil
Geburtsdatum	19.12.1983
Geburtsort	Kelheim
Eltern	Angela Prudil, Lehrerin Dr. Harald Prudil, Zahnarzt
Familienstand	ledig
Staatsangehörigkeit	deutsch

Ausbildung

12/2009	Approbation als Zahnarzt
11/2009	Abschluss der zahnärztlichen Prüfung
2004 - 2009	Studium der Zahnmedizin an der Universität
2003 - 2004	Zivildienst Cabrini-Haus Offenstetten
2003	Abitur
2001 - 2003	Johannes-Nepomuk-Gymnasium Rohr/NB
1994 - 2001	Donau-Gymnasium Kelheim
1990 - 1994	Grundschule Nord Kelheim

