

Aus der Poliklinik für Zahnärztliche Prothetik
(Prof. Dr. med. dent. R. Bürgers)
im Zentrum Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

In-vitro-Untersuchung zur initialen Biofilmbildung auf dentalen Kompositmaterialien

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
für Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Hans-Jörg Elle

aus

Göttingen

Göttingen 2018

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

Referent: Prof. Dr. med. dent. R. Bürgers

Ko-Referent: Prof. Dr. med. dent. P. F. Meyer-Marcotty

Promotor: Prof. Dr. med. M. Oppermann

Datum der mündlichen Prüfung: 23.10.2018

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "In-vitro-Untersuchung zur initialen Biofilmbildung auf dentalen Kompositmaterialien" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den

.....
(Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	V
Abkürzungsverzeichnis.....	VI
1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	2
2.1 Orale Biofilme.....	2
2.1.1 Bedeutung und Entstehung von oralen Biofilmen	2
2.1.2 <i>Streptococcus sanguinis</i>	7
2.1.3 <i>Streptococcus mutans</i>	8
2.2 Kompositmaterialien.....	9
2.2.1 Werkstoffkunde	9
2.2.2 Farben	11
2.2.3 Biofilmbildung, Karies und Komposite.....	13
2.3 Oberflächencharakterisierung und Biofilmbildung.....	14
2.3.1 Oberflächenenergie und Hydrophobizität	14
2.3.2 Rauheit	16
2.3.3 Oberflächenmorphologie.....	18
2.4 Methoden zur Quantifizierung von In-vitro-Biofilmen.....	19
2.4.1 ATP-Biolumineszenz-Assay	19
2.4.2 Resazurin-Assay.....	20
2.4.3 Tetrazolium-Assay.....	20
3 Fragestellung	22
4 Material und Methoden	23
4.1 Überblick über den Versuchsaufbau	23
4.2 Probekörper.....	23
4.2.1 Polymerisation der Probekörper	24
4.2.2 Bearbeitung der Probekörperoberflächen (Politur)	25
4.3 Mittenrauwert (R_a) und Oberflächenmorphologie.....	26
4.4 Freie Oberflächenenergie (SFE)	27
4.5 Vorbereitung der Versuchsmedien und -lösungen	28
4.5.1 Nährmedium	28
4.5.2 PBS – <i>Phosphate-buffered saline</i>	29
4.5.3 Künstlicher Speichel	29
4.5.4 Vialight plus kit	29

4.6	Versuchsvorbereitung.....	30
4.6.1	Wochenkulturen der Bakterien	30
4.6.2	Versuchskulturen.....	30
4.6.3	Vorbereitung der 48-Well-Platten.....	30
4.7	Versuchsdurchführung	32
4.7.1	Inkubation mit künstlichem Speichel.....	32
4.7.2	Präparation der Bakterienkultur.....	32
4.7.3	Inkubation mit Bakterien	33
4.7.4	ATP-Biolumineszenz-Assay	33
4.8	Statistische Auswertung.....	36
5	Ergebnisse.....	37
5.1	Erläuterung zu den Darstellungen.....	37
5.2	Rauheit	38
5.3	Morphologie.....	41
5.4	Freie Oberflächenenergie (SFE)	43
5.5	Bakterielle Adhäsion	44
5.6	Zusammenfassung der Ergebnisse	57
6	Diskussion.....	59
6.1	Diskussion der Methodik.....	59
6.1.1	Studiendesign	59
6.1.2	Probekörper.....	60
6.1.3	Weitfeld-Konfokalmikroskopie.....	61
6.1.4	Kontaktwinkelmessung	62
6.1.5	Mikrobiologische Versuche	63
6.2	Diskussion der Ergebnisse.....	64
6.2.1	Rauheit und Morphologie	64
6.2.2	Freie Oberflächenenergie.....	66
6.2.3	Bakterielle Adhäsion	67
6.3	Schlussfolgerung.....	68
7	Zusammenfassung.....	69
8	Anhang	71
9	Literaturverzeichnis	75

Abbildungsverzeichnis

Abbildungen, die nicht vom Verfasser dieser Arbeit selbst erstellt wurden, unterliegen entweder einer Creative Commons – Lizenz oder wurden mit freundlicher Genehmigung des Rechteinhabers verwendet. Quellen von Abbildungen anderer Autoren sind im Literaturverzeichnis angegeben.

Abbildung 1: Fünf Phasen der Biofilmentstehung	4
Abbildung 2: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von <i>S. mutans</i> auf Glas und <i>S. sanguinis</i> auf einem Füllungskomposit.....	9
Abbildung 3: Skalen zur Bestimmung der Zahnfarbe: VITA classical und VITA Toothguide 3D Master.....	11
Abbildung 4: Schematische Darstellung des Kontaktwinkels.....	14
Abbildung 5: Schematische Darstellung des Mittenrauwertes	16
Abbildung 6: 3-D-Ansicht einer sandgestrahlten Kompositoberfläche mit entsprechendem Profilschnitt	19
Abbildung 7: Darstellung der chemischen Reaktion des ATP-Biolumineszenz-Assays	19
Abbildung 8: Probekörper der 33 Testmaterialien	24
Abbildung 9: Polymerisation der Probekörper.....	25
Abbildung 10: Schleif- und Poliermaschine DIGIPREP 251	26
Abbildung 11: Weitfeld-Konfokalmikroskop Smartproof 5 mit Probekörpern	27
Abbildung 12: Kontaktwinkelmessgerät DSA 25	28
Abbildung 13: Schematische Darstellung der Probekörperanordnung in den 48-Well-Platten.....	31
Abbildung 14: 48-Well-Platte mit eingebrachten Probekörpern	33
Abbildung 15: Schema zur Darstellung der Überführung des Zellysats in die 96-Well-Platte.....	35
Abbildung 16: Aufbau der <i>whisker-box-plots</i>	37
Abbildung 17: Mittenrauwerte der 33 getesteten Kompositmaterialien.....	38
Abbildung 18: Aufnahme einer Standardprobekörperoberfläche und einer sandgestrahlten Probekörperoberfläche mit Profilschnitten und Rauheitsparametern.....	40

Abbildung 19: 3D-Darstellungen der Probekörperoberflächen mit Rauheitsprofil von Dentsply Ceram.X Universal A1 und A4.....	41
Abbildung 20: 3D-Darstellungen der Probekörperoberflächen mit Rauheitsprofil von Heraeus Venus Diamond A1 und A4.....	42
Abbildung 21: 3D-Darstellungen der Probekörperoberflächen mit Rauheitsprofil von VOCO Grandio A1 und A4	42
Abbildung 22: Freie Oberflächenenergie der 33 Testmaterialien	43
Abbildung 23: Endwerte der Lumineszenzmessung der 33 Testmaterialien	45
Abbildung 24: Endwerte der Lumineszenzmessung der 33 Testmaterialien nach Bakterienspezies gruppiert.....	46
Abbildung 25: Endwerte der Versuche mit Dentsply Ceram.X Universal und <i>S. mutans</i> bzw. <i>S. sanguinis</i>	47
Abbildung 26: Endwerte der Versuche mit Heraeus Venus Diamond und <i>S. mutans</i> bzw. <i>S. sanguinis</i>	48
Abbildung 27: Endwerte der Versuche mit VOCO Grandio und <i>S. mutans</i> bzw. <i>S. sanguinis</i>	49
Abbildung 28: Unterschiede der bakteriellen Adhäsion bei verschiedenen Grundmaterialien mit gleicher Farbkodierung.....	54
Abbildung 29: Unterschiedliche bakterielle Adhäsion auf Heraeus Venus Diamond A3....	55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Verwendete Materialien	23
Tabelle 2:	Signifikante Unterschiede der Anlagerung von <i>S. mutans</i> und <i>S. sanguinis</i> auf Dentsply Ceram.X Universal.....	50
Tabelle 3:	Signifikante Unterschiede der Anlagerung von <i>S. sanguinis</i> auf Heraeus Venus Diamond.....	51
Tabelle 4:	Signifikante Unterschiede der Anlagerung von <i>S. sanguinis</i> auf VOCO Grandio	51
Tabelle 5:	Vergleiche der Grundmaterialien (Hersteller)	53
Tabelle 6:	Rangkorrelationskoeffizient Kendall's Tau	56
Tabelle 7:	LOT-Nummern der verwendeten Materialien	71
Tabelle 8:	Endwerte der Versuche mit Dentsply Ceram.X Universal und <i>S. mutans</i> bzw. <i>S. sanguinis</i>	72

Abkürzungsverzeichnis

AMP	Adenosinmonophosphat
ANOVA	<i>analysis of variance</i> , Varianzanalyse
ATP	Adenosintriphosphat
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DIN	Deutsche Industrienorm
DSMZ	Leibniz-Institut - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
EPS	extrazelluläre polymere Substanz
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
mN/m	Milnewton pro Meter
O ₂	Sauerstoff
OD	Optische Dichte
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i>
PP	Pyrophosphat
Q1	unteres Quartil
Q3	oberes Quartil
R _a	Mittenrauwert
rlu	<i>relative light unit</i>
S. mutans	<i>Streptococcus mutans</i>
S. sanguinis	<i>Streptococcus sanguinis</i>
SFE	<i>Surface free energy</i> , freie Oberflächenenergie
TiO ₂	Titandioxid

1 Einleitung

In der Zahnmedizin stellen die unter dem Begriff „Komposite“ zusammengefassten Verbundwerkstoffe auf Kunststoffbasis seit den 1960er Jahren ein alternatives direktes Füllungsmaterial zu den klassischen Amalgamen dar. Ein Vorteil der Komposite gegenüber den silberfarbenen Amalgamen liegt in der zahnähnlichen Färbung, wodurch ästhetische direkte Restaurationen bei der Versorgung von Zahnhartsubstanzdefekten möglich sind. Komposite sind hierbei in vielen unterschiedlichen Farbnuancen erhältlich, um den individuellen natürlichen Zahnfarben Rechnung zu tragen. Bei adäquater Farbauswahl können derartige Füllungen visuell nur schwer vom Rest des Zahns unterschieden werden.

Der Hauptversagensgrund für dentale Füllungen sind biologische Komplikationen, z. B. die durch Biofilm bedingte Neubildung von Karies an bestehenden Restaurationsgrenzen, die sogenannte Sekundärkaries. Trotz ästhetisch sehr guter Integration in den Zahn entsteht im Randbereich von Kompositfüllungen deutlich häufiger Sekundärkaries als bei Amalgamfüllungen. Da Karies eine biofilmassoziierte Erkrankung der Zahnhartsubstanz ist, sind die Abweichungen in der Häufigkeit von Sekundärkaries unter anderem in der unterschiedlichen Biofilmmakulation auf den verschiedenen Materialien begründet. Diese wiederum wird durch verschiedene Faktoren wie beispielsweise die Oberflächenmorphologie und die chemische Zusammensetzung beeinflusst. Die verschiedenen Farbvarianten innerhalb der Komposite bedingen leicht abweichende Rezepturen und damit Divergenzen in den Materialeigenschaften.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb, die Auswirkungen der unterschiedlichen Farbmischungen und damit der abweichenden Materialrezepturen von Kompositmaterialien auf die Potentiale zur Biofilmmakulation zu untersuchen. Hierbei sollen Unterschiede in der initialen mikrobiellen Adhäsion sowie materialspezifische Oberflächencharakteristika verschiedenfarbiger Komposite ermittelt und miteinander korreliert werden.

2 Literaturübersicht

2.1 Orale Biofilme

2.1.1 Bedeutung und Entstehung von oralen Biofilmen

2.1.1.1 Orale Biofilme und Pathologien

In der Mundhöhle finden sich Bakterien in planktonischer Form, also ungebunden im Speichel, und organisiert in komplexen Biofilmen. Allgemein sind Biofilme auf festen Oberflächen adhärente, dreidimensionale Gemeinschaften verschiedenartiger Bakterien, welche in eine selbstgebildete extrazelluläre Matrix aus polymeren Substanzen eingebettet sind (Hall-Stoodley et al. 2004; Lawrence et al. 1991; O'Toole et al. 2000). Bakterien innerhalb eines solchen Biofilms unterscheiden sich phänotypisch von den planktonischen Zellen in Wachstumsrate und Gentranskription (Donlan und Costerton 2002). Zwischen den einzelnen Bakterienzellen kommt es über diverse Botenstoffe zu intra- und interspezifischer Kommunikation (Holden et al. 1999; Huang et al. 2011; Zhang et al. 2009). Eine weitere mögliche Interaktion stellt der Austausch genetischer Information durch die extrazelluläre polymere Substanz (EPS) dar (Madsen et al. 2012). Ein entsprechend ausgereifter Biofilm kann dann auch spezifisch auf äußere Reize reagieren (Liljemark et al. 1997) und verändert beispielsweise bei einem sinkenden pH-Wert seine mikrobielle Zusammensetzung zu Gunsten säurebildender Bakterienarten, wie beispielsweise *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) (Bowden und Hamilton 1987; Bradshaw et al. 1989; McDermid et al. 1986). Die Metaboliten dieser „aciden Biofilme“ bewirken u. a. die Demineralisation der Zahnhartsubstanz, was wiederum klinisch als Karies imponiert (Hellwig et al. 2013). Fortwährende (bakterielle) Säurebildung ist die Hauptursache für die Entstehung von etablierten Kariesläsionen (Burgess 1988). Werden Biofilme aufgrund insuffizienter Mundhygiene schlecht oder gar nicht entfernt, können diese auch weitere Pathologien wie Gingivitis auslösen (Nędzi-Góra et al. 2017). Durch weitere Ausbreitung des Biofilms in subgingivale Bereiche mit einhergehender Veränderung der bakteriellen Zusammensetzung von aerob bzw. grampositiv zu anaerob bzw. gramnegativ kann es zur Manifestation von parodontalen Destruktionen des Zahnhalteapparates kommen (Slots 1977a; Slots 1977b; Steinmetz und Kocher 2012; Wolf et al. 2004). Entsprechend der Gingivitis kann es bei dentalen Implantaten zur periimplantären, reversiblen Entzündung der Weichgewebe kommen (periimplantäre Mukositis). Sind zusätzlich auch die periimplantären Hartgewebe betroffen, spricht man von einer Periimplantitis, welche von Verlust der Osseointegration und

Zahnfleischtaschenbildung begleitet wird und irreversibel ist (Khammissa et al. 2012a; Khammissa et al. 2012b; Pontoriero et al. 1994; Wilson 2013). Komplexe pathologische Biofilme sind in der Mundhöhle insgesamt als Ursache der häufigsten zahnmedizinischen Erkrankungen (Karies, Parodontitis und Periimplantitis) zu sehen.

2.1.1.2 Entstehung oraler Biofilme

Die Biofilme entstehen nicht direkt auf der Zahnoberfläche oder einer dentalen Restauration, sondern indirekt über die Adhäsion an ein erworbenes Zahnoberhäutchen, das sogenannte *acquired pellicle* (Lendenmann et al. 2000). Das Pellicel ist eine azelluläre homogene Schicht aus Proteinen und Glykoproteinen des Speichels (Juriaanse et al. 1981; Lendenmann et al. 2000; Siqueira et al. 2012; Sönju und Rölla 1973). Die in wenigen Minuten entstehende Schicht (de Jong et al. 1984; Hannig 1999; Hannig et al. 2004; Skjørland et al. 1995; Vacca Smith und Bowen 2000) hat eine Dicke von 0,1 – 1 μm (García-Godoy und Hicks 2008) und wird unabhängig von der Präsenz von Bakterien gebildet (Meckel 1965). Durch weitere Akkumulation von Speichelproteinen kann der Pellicel innerhalb von 48 Stunden eine Stärke von bis zu 3 μm erreichen (Marsh und Nyvad 2009; Hannig 1999). Das Pellicel schützt einerseits den Zahnschmelz vor Demineralisation, Attrition und Erosion (Amaechi et al. 1999; Lendenmann et al. 2000; Zahradnik et al. 1976), andererseits ermöglicht es Bakterien über spezifische Rezeptoren stabiler als an freie Oberflächen zu adhären (Carlén et al. 1996b; Cheaib et al. 2015; Wessel et al. 2014). In der Mundhöhle wirken Scherkräfte auf die adhärenen Bakterien und Biofilme ein, z. B. durch Kauen, Mundhygiene, Schlucken, Zungenbewegungen und hydrodynamische Faktoren des Speichels und des Sulkusfluids (Katsikogianni und Missirlis 2004; Paramonova et al. 2009). Deshalb ist eine irreversible Adhäsion der Bakterien auf den Oberflächen für die Reifung des Biofilms essentiell (Bradshaw et al. 2001; Eginton et al. 1998; Teughels et al. 2006). Die oben genannten der Biofilmbildung entgegenwirkenden Kräfte sind in Fissuren oder in Bereichen mit größeren Rauheiten der Oberfläche verringert, weshalb solche Oberflächengegebenheiten Prädilektionsstellen für die Biofilmgeneese darstellen (Katsikogianni und Missirlis 2004; Morgan und Wilson 2001; Quirynen und Bollen 1995; Teughels et al. 2006).

Die Entstehung von oralen Biofilmen lässt sich in fünf Phasen unterteilen (Bos et al. 1999; Marsh und Bradshaw 1995; Scheie 1994; van Loosdrecht et al. 1990) (siehe Abbildung 1):

1. Transport der Mikroorganismen zur Substratoberfläche
2. Initiale reversible Adhäsion
3. Sekundäre irreversible Adhäsion
4. Maturation und Kolonisation
5. *Quorum sensing* und Dispersion

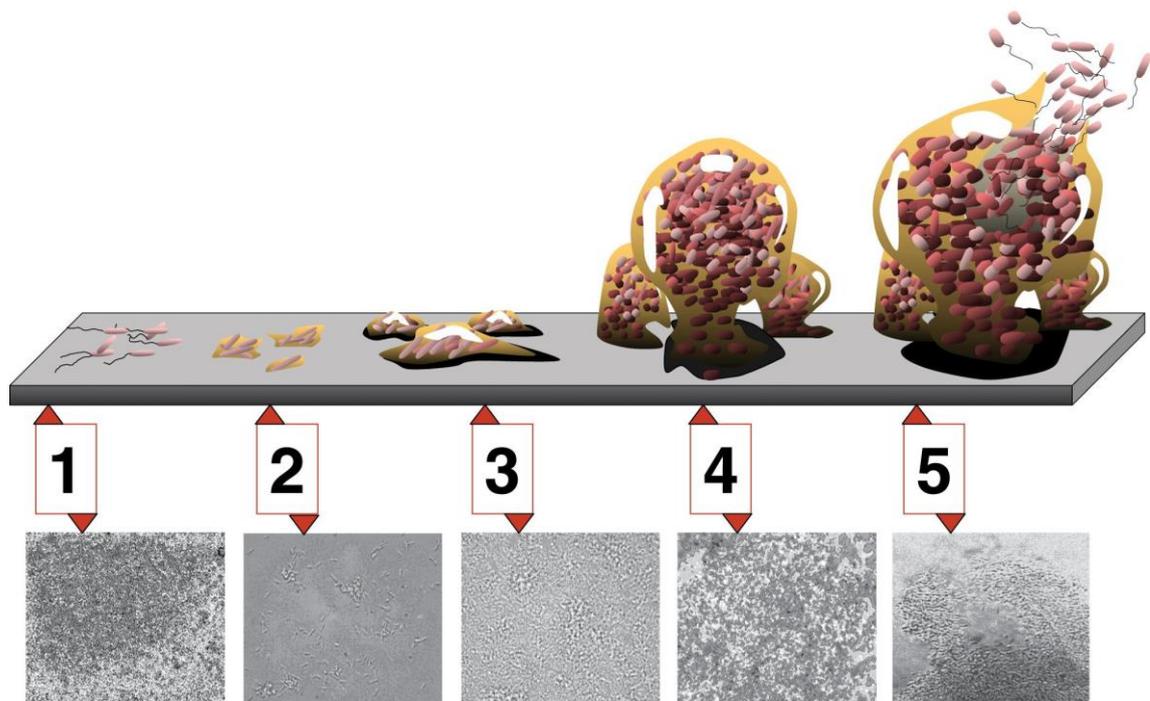


Abbildung 1: Fünf Phasen der Biofilmentstehung (Monroe 2007)

2.1.1.2.1 Transport der Mikroorganismen zur Substratoberfläche

Der Transport der Mikroorganismen zur Substratoberfläche erfolgt vorwiegend passiv durch Speichelfluss, Sedimentation und Brown'sche Eigenbewegung, da nur wenige der oralen Bakterienspezies in der Lage sind sich aktiv mittels Flagellen zu bewegen (An und Friedman 1998; Bos et al. 1999; Marsh und Bradshaw 1995; Teughels et al. 2006).

2.1.1.2.2 Initiale reversible Adhäsion

Die initiale Adhäsion der Bakterien erfolgt schwach und reversibel direkt an den bis dahin bakterienfreien Pellikel über Wechselwirkungen unterschiedlicher Reichweite. Dabei werden zwei Theorien beschrieben, zum einen die thermodynamische Theorie zum anderen die DLVO-Theorie, benannt nach Derjaguin, Landau, Verwey und Overbeek (Boks et al. 2008; Teughels et al. 2006). Die thermodynamische Theorie beruht dabei auf der Verdrängung von Wasser zwischen Bakterium und Oberfläche unter Energiefreisetzung, entsprechend dem natürlichen Streben nach Energieminimierung wird so eine Bindung ermöglicht (van Loosdrecht et al. 1989; Teughels et al. 2006). Die DLVO-Theorie beruht auf zwei entgegengesetzt wirkenden Kräften, den abstoßenden elektrostatischen Kräften und den anziehenden van-der-Waals-Kräften. Bakterien und dentale Oberflächen erhalten im wässrigen Milieu durch Ionisation funktioneller Gruppen bzw. durch Abgabe von Ionen negative Ladung, sodass sich beide elektrostatisch abstoßen. Die van-der-Waals-Kräfte beruhen auf Dipolmomenten, welche auf atomarer Ebene durch Eigenbewegung der Elektronen entstehen und so einen anziehenden Effekt zwischen Bakterien und Oberfläche bewirken (Marsh et al. 2009). In einer gewissen Distanz kommt es zu einem Gleichgewicht der beiden Kräfte und somit zu einer Adhärenz der Bakterien in geringem Abstand zur Oberfläche (Gibbons und van Houte 1973). Die initiale Adhäsion ist durch spezifische Pionierkeime gekennzeichnet, zu denen u. a. *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* und *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*) zählen (Diaz et al. 2006; Douglas 1983; Hannig und Joiner 2006). In Abhängigkeit von den jeweiligen Pionierkeimen der primären Adhäsion wird die Zusammensetzung des späteren Biofilms beeinflusst (Ammann et al. 2013; Busscher et al. 1995; Hauser-Gerspach et al. 2007).

2.1.1.2.3 Sekundäre irreversible Adhäsion

In der Phase der sekundären Adhäsion werden die schwachen reversiblen Bindungen durch spezifische Bindungen gefestigt (Flemming et al. 2007). Hierbei entstehen spezifische Verbindungen (Schlüssel-Schlüsselloch-Prinzip) zwischen Zellwandproteinen der Bakterien (Adhäsine) und entsprechenden Proteinen der Pellikel (Rezeptoren), und damit zur Substratoberfläche (Limoli et al. 2015; Mergenhausen et al. 1987; Romaní et al. 2008; Whittaker et al. 1996). Neben der stabileren, irreversiblen Adhäsion der Bakterien ist die Bildung der extrazellulären polymeren Substanz (EPS) durch die Pionierkeime, v. a. der Gattung *Streptococcus*, ein weiteres entscheidendes Merkmal dieser Phase der Biofilmbildung. Durch die aus Wasser, Polysacchariden, Proteinen und Lipiden bestehende EPS

wird Spätbesiedlern die Bindung zusätzlich erleichtert (Broukal und Zajíček 1974; Koo et al. 2009; Rosan und Lamont 2000; Vickerman et al. 1991; Vickerman und Jones 1995).

2.1.1.2.4 Maturation und Kolonisation

Sekundäre irreversible Adhäsion der Bakterien und Bildung der EPS bilden die Grundlage für die Reifung (Maturation), also das Wachstum der Bakterien, und der späteren Kolonisation (Rickard et al. 2003). Zunächst findet im Zeitraum von 4 – 24 Stunden nach der Pellicelbildung ein Zellwachstum und Vermehrung durch Zellteilung der Pionierkeime sowie die Bildung von Mikrokolonien statt, die bis zur Bedeckung der Zahnoberfläche mit einem, in der Dicke heterogenen, Bakterienrasen voranschreitet (Listgarten 1994; Nyvad 1993). Dieses Wachstum ist durch Verbindungen der Bakterien mittels Adhäsinen und Rezeptoren in den Zellwänden gekennzeichnet, wobei sich in den Zellwänden auch weitere Adhäsine und Rezeptoren für speziesübergreifende Koadhäsion und Koaggregation befinden (Palmer et al. 2003). Spätbesiedler können nun auch adherieren und die Bildung von Multispezieskolonien initiieren (Rickard et al. 2003). Eine wichtige Rolle hat in dieser Phase das *Fusobacterium nucleatum*, da es als „Brückenbildner“ zwischen Pionierkeimen und Spätbesiedlern fungiert (Bradshaw et al. 1998; Karched et al. 2015). Mit zunehmendem Wachstum wird die Sauerstoffsättigung im Biofilm verringert und so die Vermehrung von fakultativen und später obligat anaeroben Bakterien ermöglicht (Schiffner 1997). Durch weiteres Wachstum des Biofilms entwickelt dieser komplexe Architekturen aus säulenartigen, miteinander konkurrierenden Kolonien, extrazellulärer Matrix aus EPS, Kanälen usw. (Costerton et al. 1999; Haisch und Niessner 2007; Listgarten 1994).

2.1.1.2.5 *Quorum sensing* und Dispersion

Im gereiften Biofilm kommt es schließlich durch physikalische und chemische Prozesse wie Abschilferung oder Erosion zur Ablösung von Bakterienansammlungen, aber auch von einzelnen Bakterien (Stoodley et al. 2001). Eine weitere Dispersion von Biofilmanteilen wird über *quorum sensing* gesteuert, dabei handelt es sich um einen Regulationsprozess der Bakterienpopulation, der in Abhängigkeit von der Bakteriendichte verschiedene Prozesse auslöst, u.a. das Ablösen von Tochterkolonien durch gezielte Auflösung von EPS (Karatan und Watnick 2009; Leung et al. 2015; Park et al. 2017). Das Wachstum des Biofilms steuert den verschiedenen Dispersionsvorgängen entgegen, sodass sich ein Gleichgewicht einstellt (Marsh und Bradshaw 1995; Costerton et al. 1999). Die abgespalteten Bakterienkonglomerate adhärieren an anderen Lokalisationen erneut und steigern somit die Ausbreitung des Biofilms zusätzlich.

2.1.2 *Streptococcus sanguinis*

Die Gattung der Streptokokken umfasst grampositive fakultativ anaerobe Kokken (Hahn et al. 2005) (siehe Abbildung 2). *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*) gehört zur Mitisgruppe der Viridans-Streptokokken (Chun et al. 2015) und zählt zu den sogenannten Pionierkeimen der Mundhöhle (Diaz et al. 2006; Hannig und Joiner 2006; Hellwig et al. 2013). Diese Bakterien besiedeln somit direkt nach Bildung des Pellikels die Zahnoberfläche und kolonisieren dort (Hojo et al. 2009). Durch Bildung einer IgA1-Protease ist es dieser Spezies möglich, der humoralen Immunabwehr zu widerstehen und so die Bildung des Biofilms zu initiieren (Labib et al. 1978; Marsh et al. 2009; Mistry und Stockley 2006). Mittels eines Arginin-Deiminase-Systems ist *S. sanguinis* in der Lage, Arginin zu hydrolysieren und Ammoniak zu bilden (Huang et al. 2015). Einerseits liefert diese Reaktion dem Bakterium Energie, sodass auch bei schlechter Nährstoffzufuhr Wachstum gesichert ist, andererseits hebt sie den pH-Wert innerhalb des Biofilms an und schützt so die Bakterien vor Säureschädigung (Casiano-Colón und Marquis 1988; Nisengard und Newman 1994; Sheng et al. 2010). Unter aeroben Bedingungen ist *S. sanguinis* in der Lage, Pyruvatoxidase zu exprimieren und damit Wasserstoffperoxid (H_2O_2) zu bilden und zu sezernieren (Sumioka et al. 2017; Uehara et al. 2006; Zheng et al. 2011). Das produzierte extrazelluläre H_2O_2 führt zu einer nicht autolytischen Freisetzung von Desoxyribonukleinsäure (DNA) aus *S. sanguinis*, wodurch der Austausch von genetischen Informationen begünstigt, die Zell-Zell-Adhäsion gesteigert und damit die Biofilmbildung gefördert wird (Kreth et al. 2009). Des Weiteren wirkt extrazelluläres H_2O_2 antagonistisch auf die Etablierung von *S. mutans* (Huang et al. 2016; Kreth et al. 2005) und kann bei einer Bakteriämie neutrophile Zellen zerstören, wodurch das Überleben der Keime im Blut gesichert wird und so eine infektiöse Endokarditis entstehen kann (Sumioka et al. 2017). Es wird beschrieben, dass *S. sanguinis* der am häufigsten gefundene Keim der Viridans-Streptokokken bei einer infektiösen Endokarditis ist (Ge et al. 2008). Aus dem antagonistischen Verhalten gegenüber *S. mutans* ergibt sich ein antiproportionales Verhältnis bezüglich des Wachstums der beiden Spezies (Caufield et al. 2000). Ein weiteres Produkt von *S. sanguinis* sind mittels einer Glykosyltransferase gebildete wasserlösliche und -unlösliche Glucane, die einen Bestandteil der EPS darstellen und so die Bindung weiterer Keime, insbesondere *S. mutans* ermöglichen (Vacca Smith et al. 2000). Somit nimmt *S. sanguinis* als Primärbesiedler eine Schlüsselrolle in der Entstehung und Proliferation von oralen Biofilmen ein (Hojo et al. 2009; Lehmann 1991).

2.1.3 *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans (*S. mutans*) (siehe Abbildung 2) stellt den Leitkeim der dentalen Karies da (Ajdić et al. 2002; Yoshida et al. 2005). Er ist im Gegensatz zu *S. sanguinis* ein pathogener Spätbesiedler, d.h. der Keim nutzt meist bereits etablierte Strukturen des Biofilms zur Adhäsion. Bei Kindern die an einer *early childhood caries* (ECC) leiden, einer Karieserkrankung der Milchzähne im frühen Kindesalter, welche meist durch falsche Ernährung bedingt ist und daher auch als Nursing-Bottle-Syndrom bezeichnet wird (Kawashita et al. 2011), ist *S. mutans* in deutlich erhöhter Keimzahl zu finden als bei kariesfreien Kindern (Mitrakul et al. 2016; Paes Leme et al. 2006), ein Indiz auf eine Korrelation zwischen dem Keim und Karies. Die initiale Adhäsion von *S. mutans* an Biofilme oder Oberflächen erfolgt indirekt über Glucane, welche durch Glykosyltransferasen gebildet werden und Bestandteile der EPS darstellen (Loesche 1986). Die Glykosyltransferasen können u. a. von den Pionierkeimen stammen (Vacca Smith et al. 2000), werden aber auch von *S. mutans* selbst gebildet und sezerniert (Loesche 1986; Paes Leme et al. 2006). Sezernierte Glykosyltransferasen binden an das Pellikel und zeigen dort enzymatische Aktivität in Form von Bildung wasserlöslicher und -unlöslicher Glucane sobald Saccharose verfügbar ist (Hannig et al. 2008; Koo et al. 2009; Schilling und Bowen 1988), wodurch sich *S. mutans* selbst eine Bindungsmöglichkeit an die Oberfläche schafft (Cross et al. 2007; Schilling und Bowen 1992). Die produzierten Glucane tragen zum Wachstum der EPS bei und stellen eine intra- und interspezifische Bindungsmöglichkeit der Keime im Biofilm dar (Paes Leme et al. 2006). Saccharose wird nicht nur für die Bildung von Glucanen durch die Glykosyltransferasen genutzt, sondern auch durch *S. mutans* selbst metabolisiert, wobei Milchsäure gebildet wird und so der pH-Wert im Biofilm sinkt (Cross et al. 2009). Das Absinken des pH-Werts bewirkt eine Umstrukturierung der Bakterienzusammensetzung zu Gunsten der säureresistenten Bakterien. *Streptococcus mutans* nutzt dazu eine F-ATPase, die Protonen aus der Zelle pumpt (Matsui und Cvitkovitch 2010; Quivey et al. 2000; Sheng und Marquis 2006). Durch intrazelluläre Speicherung von Saccharose ist es *S. mutans* möglich nährstoffarme Phasen zu überstehen und dabei weiterhin Milchsäure zu produzieren (Kreth et al. 2008). Die Säureproduktion hat neben dem pH-Wert-Abfall im Biofilm auch weitere Folgen, wie die Demineralisation der Zahnhartsubstanz und die darauf folgende Entstehung von Karies (Burgess 1988; Marsh und Nyvad 2009). *Streptococcus mutans* wird in der Biofilmbildung, Säureproduktion, Säureresistenz, genetischer Transformation und Bacteriocinproduktion durch *quorum sensing* über ein *competence stimulating peptide* reguliert. Durch Beeinflussung dieses Systems werden neue Therapie Wege von *S. mutans* – Infektionen auf Wachstumsstillstand oder sogar Apoptose der Keime erforscht (Senadheera und Cvitkovitch 2008).

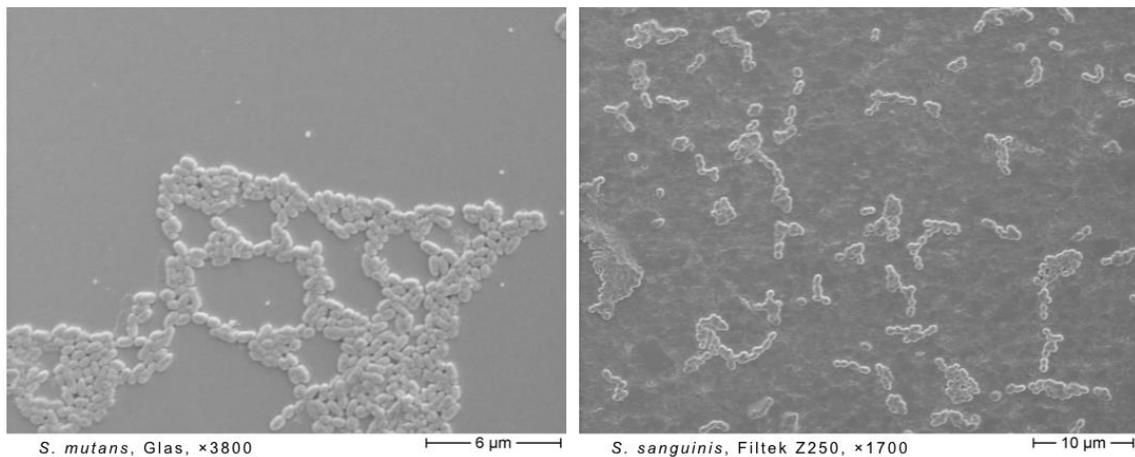


Abbildung 2: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von *S. mutans* auf Glas (links, 3800fache Vergrößerung) und *S. sanguinis* auf einem Füllungskomposit (rechts, 1700fache Vergrößerung) nach 240 bzw. 120 Min. Inkubation (Quelle: R. Bürgers)

2.2 Kompositmaterialien

2.2.1 Werkstoffkunde

Dentale Komposite sind seit über 50 Jahren verfügbar und stellen als direktes Füllungsmaterial eine zahnfarbene und damit höchästhetische Alternative zum Amalgam dar (Craig et al. 2006). Amalgamfüllungen schienen jedoch den Kompositfüllungen bzgl. der Lebensdauer bisher immer noch überlegen zu sein, was wiederum von Morphologie und Insertionstechnik der Füllungen abhängig ist (Antony et al. 2008; Bernardo et al. 2007; Opdam et al. 2010). Der Hauptgrund für das Versagen beider Füllungsarten ist die Entstehung von Sekundärkaries am Übergang von Füllung zu Zahnhartsubstanz (Dahl und Eriksen 1978; Mjör 1997). Durch Verbesserungen der Kompositrezepturen, Adhäsivsysteme und Insertionstechniken wurde die Erfolgsrate von Kompositfüllungen jedoch stetig verbessert (Borgia et al. 2017; Kopperud et al. 2012). Am häufigsten finden in der Zahnmedizin sogenannte Hybrid-Komposite Anwendung, deren Hauptbestandteile eine organische Matrix und anorganische Füllstoffe bilden (Hervás-García et al. 2006).

Die organische Matrix ist ein Stoffgemisch, dessen Grundlage verschiedene Monomere wie Bis-GMA (Bisphenol-A-Glycidyl-Methacrylat) oder UDMA (Urethandimethacrylat) bilden

(Ilie et al. 2016b; Peutzfeldt 1997). Die niedermolekularen Comonomere EGDMA (Ethylen-Glycol-Dimethacrylat), DEGDMA (Diethylen-Glycol-Dimethacrylat) und TEGDMA (Triethylen-Glycol-Dimethacrylat) werden zur Vernetzung eingesetzt, wobei das letztgenannte Comonomer die Viskosität herabsetzt, damit die Fließfähigkeit steigert, aber auch die Polymerisationsschrumpfung erhöht (Craig et al. 2006; Fortin und Vargas 2000; Gonçalves et al. 2008; Hellwig et al. 2013). Um eine Polymerisationsreaktion durch freie Radikale auszulösen, werden Initiatorsysteme zugesetzt. Dies sind bei Fotopolymerisaten meistens Diketone (Kampferchinon) in Verbindung mit einem tertiären Amin (4-N,N-Dimethylaminobenzoessäureethylester, DMAPE) als Koinitiator, welche bei Beleuchtung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge miteinander reagieren und Radikale bilden (Ilie et al. 2016a). Bei Autopolymerisaten reagieren Benzoylperoxide als Initiatoren durch Vermischung mit aromatischen tertiären Aminen (N,N-Dihydroxyethyl-P-Toluidin) unter Bildung von Radikalen (Hellwig et al. 2013; Hervás-García et al. 2006). Inhibitoren wie Butylhydroxytoluol (BHT) dienen als Stabilisatoren, indem sie mit vorzeitig entstehenden freien Radikalen reagieren und so die Lagerungsfähigkeit der Komposite erhöhen. Weitere Bestandteile der organischen Matrix sind UV-Absorber, Fotostabilisatoren, Weichmacher und Pigmente (Hellwig et al. 2013; Spahl et al. 1998), letztere werden in Kap. 2.2.2 näher dargestellt.

Die anorganischen Füllkörper, auch als disperse oder Dispersionsphase bezeichnet, dienen der Verbesserung der Materialeigenschaften durch Erhöhung von Druck-, Zug- und Verschleißfestigkeit, sowie des Elastizitätsmoduls und durch Herabsetzen der Polymerisationsschrumpfung (Hellwig et al. 2013). Als Materialien für Füllkörper können Quarze, Gläser und Keramiken zum Einsatz kommen. Durch röntgenopake Zusätze, z. B. Ytterbiumfluorid, ist eine röntgenologische Darstellung von Kompositfüllungen in entsprechend versorgten Zähnen möglich (Ilie et al. 2005). Eine gängige Einteilung der Komposite erfolgt nach der Partikelgröße der Füllstoffe, Makrofüller-Komposite besitzen eine Partikelgröße von 0,1 – 10 μm , Mikrofüller-Komposite hingegen beinhalten meistens Partikel mit einer Größe von 0,01 – 0,07 μm (Hellwig et al. 2013; Ilie et al. 2005). Sogenannte Hybridkomposite enthalten Makro- (85 – 90 %) und Mikrofüller (10 – 15 %), wodurch die positiven Eigenschaften beider Komposite kombiniert werden und der Füllstoffgehalt auf ca. 85 % gesteigert werden konnte. Sie werden in Feinpartikelhybridkomposite (Partikelgröße bis 5 μm), Feinstpartikelhybridkomposite (Partikelgröße bis 3 μm) und Submikrometerkomposite (Partikelgröße unter 1 μm) unterteilt (Hellwig et al. 2013). Durch noch feinere Füllkörper ab 5 nm Größe konnten die werkstoffkundlichen Eigenschaften, wie z.B. die Polierbarkeit, verbessert und der Füllkörpergehalt weiter gesteigert werden, solche

Komposite werden als Nanofüllerkomposite bezeichnet (Hellwig et al. 2013; Schmalz und Arenholt-Bindslev 2005). Um eine chemische Verbindung der Füllkörper mit der organischen Matrix zu erzeugen, werden die Füllkörper silanisiert. Hierzu wird meistens 3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan verwendet, welches bifunktionell über eine Methoxysilan-Gruppe an den Füllkörper und eine Methacrylat-Gruppe an die Matrix bindet (Hellwig et al. 2013; Matinlinna et al. 2004; Shah und Stansbury 2007).

2.2.2 Farben

Zähne erscheinen durch Unterschiede in der Adsorption, Transmission, Reflexion und Remission des Lichts farblich verschieden (Hoffmann 2010). Dentin ist in der Farbgebung der Hauptfaktor, jedoch beeinflusst der relativ farblose Zahnschmelz die Wirkung der Dentinfarbe in Abhängigkeit von seiner Dicke und Transluzenz (Battersby und Battersby 2015; Oguro et al. 2016). Ein weit verbreitetes System zur Einteilung der Zahnfarben ist die VITA-Classical-Farbskala (Chu et al. 2010). Weiterentwicklungen stellen das VITA-Toothguide-3D-Master und das VITA-Linearguide-3D-Master dar, die ein größeres Farbangebot haben und besser reproduzierbare Farbbestimmungen ermöglichen (Paravina 2009) (siehe Abbildung 3). Die Zahnfarbe kann auch durch den Einsatz von Spectrophotometern digital bestimmt werden, wobei eine Kombination aus visueller und digitaler Farbbestimmung die besten Ergebnisse erzielt (Chu et al. 2010).



Abbildung 3: Skalen zur Bestimmung der Zahnfarbe: VITA classical (links) und VITA Toothguide 3D Master (rechts) (Quelle: vita-zahnfabrik.com)

Die Farbgebung wird durch Zugabe von Farbmitteln bei der Herstellung der Komposite erreicht, hierbei wird zwischen Farbstoffen und Farbpigmenten differenziert (Bertau et al. 2013; Herbst und Hunger 2009). Farbstoffe liegen in gelöster Form im Komposit vor, während organische oder anorganische Farbpigmente als Feststoffpartikel einer Korngröße von $0,01 - 1 \mu\text{m}$ in der Kompositmatrix dispergiert werden (Bertau et al. 2013; Kappert und Eichner 2005). Farbstoffe sind nicht migrationsecht, d. h. sie können sich mit zunehmender Alterung des Komposits an der Oberfläche ablagern und so „ausblühen“ bzw. in die Umgebung freigesetzt werden (Müller 2002). Farbpigmente sind fest in die Matrix der Komposite eingebunden und dadurch farbstabiler als Farbstoffe (Kappert und Eichner 2005; Müller 2002). Bedenkt man das Einsatzgebiet von dentalen Kompositmaterialien, wird deutlich, dass diese biokompatibel, unlöslich und beständig gegenüber physikalischen Einflüssen sein müssen und so die Bandbreite in Frage kommender Farbmittel eingeschränkt ist (Kappert und Eichner 2005). Die Hersteller setzen zumeist anorganische Pigmente ein, da diese den o. g. Anforderungen am ehesten entsprechen, durch Mischung der verschiedenen Pigmente und Variation der Mengen werden die verschiedenen Zahnfarben erzielt (Kappert und Eichner 2005). Dabei können bestimmte Farben durch verschiedene Pigmente hervorgerufen werden, so kann beispielsweise die Farbe Weiß durch Titandioxid, Zinksulfid oder Bleiweiß erzeugt werden (Bertau et al. 2013). Es werden nicht alle Pigmente für die Herstellung von Medizinprodukten verwendet, Pigmente auf Cadmium-, Chrom- oder Blei-Basis finden hierbei keine Anwendung mehr (Kappert und Eichner 2005). Unter den Pigmenten sind Oxide die beständigsten, Sulfide zeigen eine schlechte Säurebeständigkeit, während Chromate im basischen Milieu nicht beständig sind (Domininghaus 2007). In dentalen Kompositen werden hauptsächlich Metalloxidpigmente wie Eisenoxide oder Titandioxidverbindungen verwendet (Kappert und Eichner 2005; Schmideder 2008). Titandioxid (TiO_2) wirkt als Pigment opazifizierend und aufhellend (Bertau et al. 2013; Schmideder 2008), das Oxid an sich kann durch photokatalytische Stimulation bakterizid und detoxifizierend wirken (Gogniat et al. 2006; Maness et al. 1999; Sunada et al. 1998). Photokatalytische Modifikation von TiO_2 durch UV-Licht führt bei speziell beschichteten Oberflächen zu einer Veränderung der Benetzbarkeit von hydrophob zu hydrophil (Sulong und Rus 2013; Zhang et al. 2006). Auch Eisenoxide zeigen in Form von Nanopartikeln bakterizide Effekte auf Biofilme (Javanbakht et al. 2016).

2.2.3 Biofilmbildung, Karies und Komposite

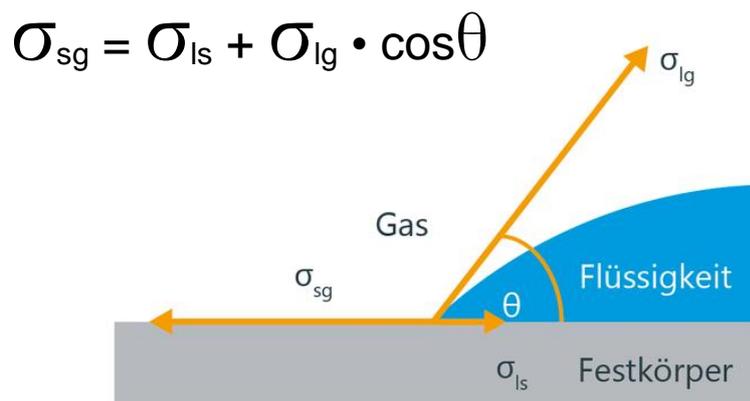
Direkte Versorgungen kariöser Zahnhartsubstanzdefekte unterliegen der Pellikel- und Biofilmanlagerung ebenso wie die natürliche Zahnoberfläche (Lendenmann et al. 2000). Defekte und Passungengenauigkeiten im Randbereich von direkten Restaurationen stellen Prädilektionsstellen für die Entstehung von Karies dar (Katsikogianni und Missirlis 2004; Morgan und Wilson 2001; Quirynen und Bollen 1995 Teughels et al. 2006). Dabei ist zu erwähnen, dass die Mundhygiene die Biofilmbildung deutlich stärker beeinflusst als die zuvor genannten Faktoren (Lima et al. 2009). Die Rauheit und die Zusammensetzung der Restaurationsmaterialien sind weitere die Biofilmformation beeinflussende Faktoren. Auf Amalgam und Gold beispielsweise bilden sich stärkere und vollständig bedeckende Biofilme mit geringer Viabilität der enthaltenen Bakterien, während bei Kompositen gegenläufige Tendenzen gezeigt werden konnten (Auschill et al. 2002; Busscher et al. 2010). In-vitro-Untersuchungen belegten inhibitorische Effekte von Amalgam auf adhärenente Biofilme, während bei Kompositen diese Wirkung nur anfänglich und in geringerem Ausmaß nachgewiesen wurde und nach fortschreitender Dauer der Untersuchung sich sogar biofilmfördernde Effekte zeigten (Beyth et al. 2007). Die initiale Bakterienanlagerung ist auf Kompositmaterialien gegenüber dem Schmelz begünstigt (Konishi et al. 2003). Adhärenente Biofilme verändern direkt und über ihre Stoffwechselprodukte die Oberflächenstruktur von Kompositen, beispielsweise werden Füllerstoffe herausgelöst (De Moraes et al. 2008; Ferracane et al. 1998; Ionescu et al. 2012). Als Folge kann z. B. eine Zunahme der Rauheit (siehe 2.3.2) festgestellt werden (Beyth et al. 2008; Hansel et al. 1998).

Biofilme und Mikroleakage an dentalen Restaurationen können die Entstehung von Sekundärkaries induzieren (Pinna et al. 2017), jedoch sind auch hierbei patientenbezogene Faktoren ausschlaggebend (van de Sande 2016). Direkte Restaurationen zeigen materialabhängige Inzidenz von Sekundärkaries, bei Amalgam und Glasionomerkompositen ist diese geringer als bei Kompositfüllungen (Bernardo et al. 2007; Kuper et al. 2012; Moraschini et al. 2015). Deshalb wird versucht, durch Zusätze in Kompositen und Adhäsiven die Biofilmformation bzw. die Etablierung von Sekundärkaries zu reduzieren (Geraldini et al. 2017; Li et al. 2009; Zhang et al. 2015). So konnten beispielsweise bakterizide und zum Teil die Biofilmmakkumulation inhibierende Effekte für Zusätze von Polyethylenimin- und Zinkoxid-Nanopartikeln sowie Silber-Mikropartikeln gezeigt werden (Aydin Sevinç und Hanley 2010; Beyth et al. 2010; Bürgers et al. 2009b). Fluoridfreisetzende Kompositmaterialien können die Kariogenität von Biofilmen herabsetzen, indem sie durch Fluoridabgabe in der initialen Phase der Biofilmbildung dessen Zusammensetzung zu Gunsten nicht kariogener Keime ändern (Pandit et al. 2011).

2.3 Oberflächencharakterisierung und Biofilmbildung

2.3.1 Oberflächenenergie und Hydrophobizität

Die freie Oberflächenenergie (*surface free energy*, SFE) beschreibt die benötigte Energie pro Fläche, welche aufgewendet werden muss, um die chemischen Bindungen einer festen Oberfläche aufzubrechen, sie wird in der SI-Einheit J/m² oder Nm/m² angegeben (Mollet und Grubenmann 2009). Bei Flüssigkeiten wird äquivalent der Begriff Oberflächenspannung verwendet. Die Bestimmung der SFE erfolgt meist indirekt über eine Kontaktwinkelmessung (Meichsner et al. 2016; Peifer und Profos 2008). Hierbei lässt sich aus den Kontaktwinkeln zwischen den Tropfen spezifischer Flüssigkeiten (mit bekannten Oberflächenspannungen) und der Testoberfläche die SFE mit Hilfe der Youngschen Gleichung errechnen (Busscher et al. 1984a) (siehe Abbildung 4).



σ_{lg} = Oberflächenspannung der Flüssigkeit

σ_{ls} = Grenzflächenspannung zwischen Flüssigkeit und Festkörper

σ_{sg} = Freie Oberflächenenergie des Festkörpers

θ = Kontaktwinkel

Abbildung 4: Schematische Darstellung des Kontaktwinkels (Krüss 2017)

Unter Beachtung der Theorie nach Owens, Wendt, Rabel und Kaelble (OWRK) und unter Verwendung einer polaren und einer dispersiven Flüssigkeit bei der Kontaktwinkelmessung lassen sich neben der Berechnung der freien Oberflächenenergie Vorhersagen über das Benetzungsverhalten von verschiedenen Flüssigkeiten auf der Oberfläche treffen (Kaelble 1970; Owens und Wendt 1969; Rabel 1971). Die Oberflächenenergie verhält sich antiproportional zur Hydrophobizität, d. h. mit steigender Oberflächenenergie wird das Substrat hydrophiler (van Loosdrecht et al. 1987), wodurch eine Anlagerung von Wasser begünstigt, somit die Bildung des *acquired pellicle* erschwert (Lindh 2002) und dadurch wiederum die bakterielle Adhäsion an der Oberfläche verringert wird (Cheaib et al. 2015). Absoloms thermodynamische Überlegungen und seine 1983 erstellte Formel zur freien Energie der bakteriellen Adhäsion $\Delta G_{adh} = \sigma_{sb} - \sigma_{sl} - \sigma_{bl}$ zeigen die Zusammenhänge zwischen den Oberflächenspannungen des Substrats, der Bakterien und des Suspensionsmediums (Absolom et al. 1983). Ist die freie Energie der bakteriellen Adhäsion $\Delta G_{adh} < 0$ so wird eine bakterielle Adhäsion begünstigt (Quiryen und Bollen 1995). Befindet sich ein Bakterium in einem Medium mit einer in Relation höheren Oberflächenspannung wird eine Adhäsion eher auf hydrophoben Oberflächen stattfinden. Ist das Verhältnis der Oberflächenspannungen von Bakterium und Medium jedoch umgekehrt so wird die Adhäsion auf hydrophilen Oberflächen begünstigt (Hannig und Hannig 2009; Hauser-Gerspach et al. 2007; Teughels et al. 2006). Daraus lässt sich weiter ableiten, dass die Hydrophobizitäten von Bakterium und Oberfläche Einfluss auf die spezifische bakterielle Adhäsion haben. Zeigen also beide ähnlich hydrophobe bzw. hydrophile Eigenschaften, dann wird eine Adhäsion begünstigt. Weichen die SFE von Oberfläche und Bakterium ab (z.B. hydrophiles Bakterium und hydrophobe Oberfläche), dann sind Adhäsionsvorgänge erschwert (An und Friedman 1998; Grivet et al. 2000). Bürgers *et al.* zeigten bei fungalen Biofilmen einen größeren Einfluss der SFE auf die Adhäsion im Verhältnis zur Rauheit (Bürgers et al. 2010a), wiederum gegenläufige Ergebnisse lieferten Untersuchungen der Gruppe zur initialen bakteriellen Adhäsion auf dentalen Implantaten mit verschiedenen Oberflächen (Bürgers et al. 2010c).

2.3.2 Rauheit

Die bakterielle Adhäsion auf intraoralen Oberflächen beginnt vor allem in Bereichen, welche vor Scherkräften, z.B. bedingt durch Mundhygienemaßnahmen oder physiologische Selbstreinigung durch den Speichel, geschützt sind (Hannig 1999; Quirynen und Bollen 1995). Dies können makroskopische Oberflächenausprägungen wie Fissuren, Perikymatien oder Zahnhartsubstanzdefekte sein oder auch Passungenauigkeiten an den Rändern dentaler Restaurationen (Hannig 1999; Nyvad und Fejerskov 1987). Oberflächen weisen zusätzlich feine Vertiefungen bzw. Riefen und Erhebungen bzw. Grate (Mikrorauheiten) auf, welche die Rauheiten erzeugen (Sarıkaya und Güler 2010; Trautwein et al. 2014). Die DIN 4760 (Deutsches Institut für Normung e.V.) beschreibt Gestaltabweichungen von Werkstoffoberflächen und teilt diese in sechs Ordnungen, wobei die erste Ordnung die Formabweichung, die zweite Ordnung die Welligkeit und die Ordnungen 3 – 6 die Rauheit definieren (Schuth und Buerakov 2017). Der Übergang zwischen Welligkeit und Rauheit wird über die Grenzwellenlänge λ_c festgelegt (Klein 2013). Im Bereich der dentalen Werkstoffe wird häufig der arithmetische Mittenrauwert R_a mit der Einheit μm angegeben (Gadelmawla et al. 2002; Quirynen und Bollen 1995). Der arithmetische Mittenrauwert R_a stellt die durchschnittliche Abweichung der Unebenheiten von einer konstruierten Mittellinie, welche die Unebenheiten in zwei flächenmäßig gleiche Bereiche unterteilt, dar und ist ein zweidimensionaler Parameter, da er entlang einer Messstrecke ermittelt wird (An und Friedman 1998; Schuth und Buerakov 2017) (siehe Abbildung 5).

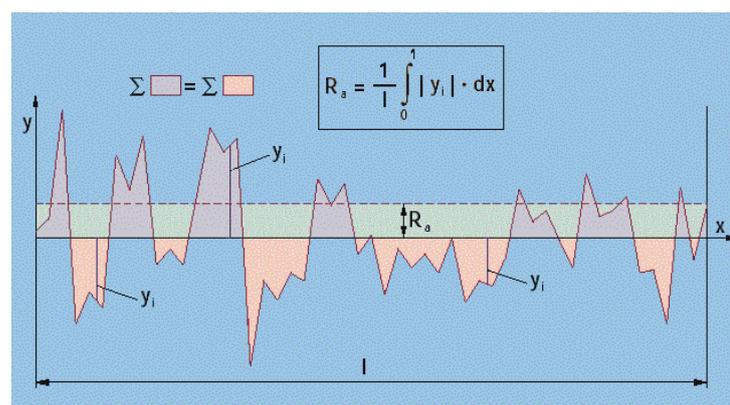


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Mittenrauwertes (R_a), arithmetisches Mittel aller Abweichungen (y_i) von einer konstruierten Mittellinie (x) innerhalb einer Messstrecke (l) (BGTB 2017)

Die Messung der Rauheit einer Oberfläche kann durch verschiedene Methoden erfolgen, wobei die 2D-Profilometrie in der Literatur als adäquate Methode hinreichend beschrieben wird (Kocher et al. 2002). Bei diesem Verfahren wird die Oberfläche mit einer kegelförmigen Diamanttastspitze abgetastet, die so erhaltenen mechanischen Signale werden mittels eines Wandlers in elektrische Signale umgewandelt und diese dann von einem Computer ausgewertet (Sander 1991; Tschernin 2003). Durch neuere Verfahren, wie z. B. die computergestützte Konfokalmikroskopie oder Laser-Scanning-Mikroskopie, kann die Oberfläche optisch erfasst und die Rauheit aus den Daten berechnet werden (siehe auch 2.3.3) (Abu-Bakr et al. 2001; Park et al. 2015).

Die Rauheit von Werkstoffen beeinflusst die bakterielle Adhäsion und damit die Biofilmbildung, wobei in der Literatur ein Schwellenwert für Titan von $R_a = 0,2 \mu\text{m}$ beschrieben wird, nur oberhalb dessen eine Biofilmbildung begünstigt wird (Bollen et al. 1997; Teughels et al. 2006). Eine Reduktion der Rauheit durch Politur der Oberfläche auf R_a -Werte unter $0,2 \mu\text{m}$ führt entsprechend zu keiner weiteren Verringerung der bakteriellen Adhäsion (Bollen et al. 1997). Bezüglich anderer Materialien, wie Komposit oder Provisorienkunststoffe, ist die Datenlage derzeit nicht eindeutig, einige Studien fanden keine Korrelation zwischen der Rauheit und der Adhäsion von *S. mutans* (Bürgers et al. 2007; Lassila et al. 2009; Meier et al. 2008), andere zeigten wiederum eine quantitativ erhöhte Anlagerung von Bakterien an raueren Oberflächen (Al-Marzok und Al-Azzawi 2009; Aykent et al. 2010; Kantorski et al. 2008). Eine deutlichere Korrelation zwischen Plaqueakkumulation und Rauheit gegenüber der chemischen Zusammensetzung beschreiben Tang *et al.* (Tang et al. 2011).

Bürgers *et al.* zeigten *in vitro* und *in vivo*, dass Biofilme auf sandgestrahlten, säuregeätzten und dadurch raueren Titanoberflächen stärker akkumulieren als auf unbehandelten Titanoberflächen, die freie Oberflächenenergie hatte dabei kaum Einfluss auf die Bakterienanlagerung (Bürgers et al. 2010c). Eine weitere In-vivo-Studie konnte anhand von Einheilabutments, deren Oberfläche in vier Partitionen unterteilt und diese jeweils verschiedenen Oberflächenbehandlungen unterzogen wurden, ebenfalls eine vermehrte Biofilmmakkumulation auf raueren Arealen darstellen (Elter et al. 2008). Weitere Studien untersuchten den Einfluss von Rauheit und freier Oberflächenenergie auf die bakterielle Adhäsion, die Ergebnisse zeigten einen größeren Einfluss der Rauheit auf die bakterielle Adhäsion (Bürgers et al. 2010b; Yuan et al. 2016).

2.3.3 Oberflächenmorphologie

Während die Rauheit die Ausprägung der Grate und Riefen einer Oberfläche widerspiegelt, stellt die Oberflächenmorphologie die Gesamtstruktur/-form der entsprechenden Oberfläche dar und kann daher im Gegensatz zur Rauheit nicht im Tastschnittverfahren entlang einer Strecke gemessen werden. Ein der 2D-Profilometrie ähnliches Verfahren zur Darstellung der Oberflächenstruktur ist die Rasterkraftmikroskopie (AFM, *atomic force microscopy*), bei der die Oberfläche mit einer sehr feinen Spitze (*Tip*) abgerastert und so ein 3D-Bild der Oberfläche erzeugt wird, wobei die Kraft zwischen Oberfläche und *Tip* gemessen wird und so eine Auflösung bis zu 0,1 nm erreicht werden kann (Eaton und West 2010). Die Rasterelektronenmikroskopie (REM/*SEM scanning electron microscopy*) stellt eine weitere Möglichkeit zur Erfassung der Oberflächenmorphologie dar, dazu wird in einem Hochvakuum mit einem Strahl stark beschleunigter Elektronen die Oberfläche schrittweise „beschossen“ und aus der Detektion der Wechselwirkungen zwischen Oberfläche und Elektronen ein Bild erzeugt (Ardenne 2013; Goldstein et al. 2012). Mit Hilfe der computergestützten Konfokalmikroskopie ist ein weiteres Verfahren der 3D-Bildgebung und Analyse von Oberflächen entwickelt worden, hierbei wird das Substrat lichtmikroskopisch abgerastert und ein digitales Bild erzeugt (Leach 2011). Die Weiterentwicklung dieser Technik durch Ergänzung um eine rotierende Scheibe mit mehreren Lochblenden und durch Kombination mit der Weitfeldmikroskopie konnten mehrere Punkte der Oberfläche gleichzeitig detektiert und somit die Bilderstellung deutlich beschleunigt werden (Leach 2011). Durch die computergestützte Analyse der mittels Weitfeld-Konfokalmikroskop erstellten 3D-Bilder von Oberflächen können Rauheitsparameter direkt abgeleitet und so eine zusätzliche Messung der Rauheit durch 2D-Profilometrie umgangen werden (Lange et al. 1993) (siehe Abbildung 6).

Oberflächenmorphologische Gegebenheiten wie makroskopische Rillen oder Vertiefungen stellen Prädilektionsstellen für die Ansammlung von planktonischen Mikroorganismen und somit für die initiale Biofilmbildung dar (Lorenzetti et al. 2015; Perera-Costa et al. 2014).

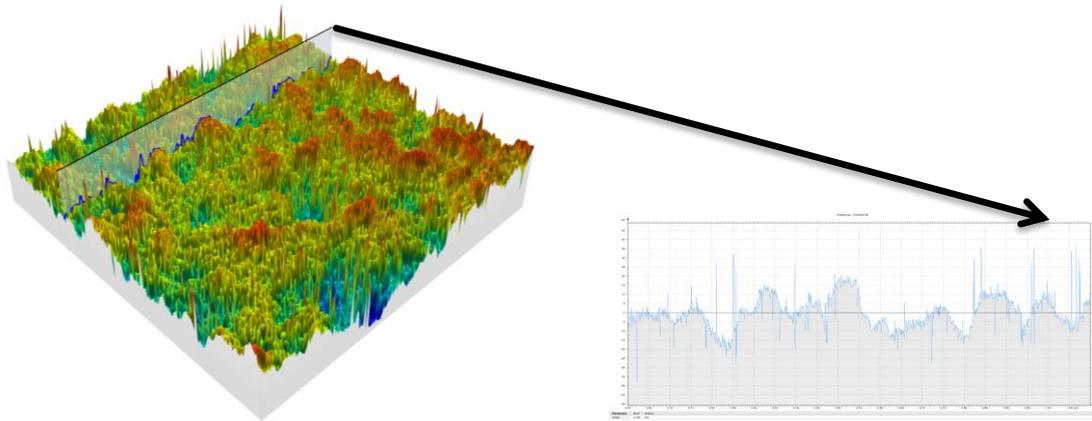


Abbildung 6: 3-D-Ansicht einer sandgestrahlten (110 µm, 2 bar) Kompositoberfläche (110 x 110 µm) mit entsprechendem Profilschnitt [µm]

2.4 Methoden zur Quantifizierung von In-vitro-Biofilmen

Der quantitative Nachweis von oberflächenadhärenten Biofilmen kann über direkte bildgebende Verfahren z. B. mittels Elektronenmikroskopie oder Fluoreszenzmikroskopie (James et al. 2017) oder auch indirekt durch den Nachweis von bakteriellen Stoffwechselprodukten erfolgen (Wink 2011).

2.4.1 ATP-Biolumineszenz-Assay

Adenosintriphosphat (ATP) ist ein intrazellulärer Energieträger, welcher bei der Zellatmung gebildet wird (Doenecke et al. 2005; Koolman und Röhm 2003). Enzymatischer Abbau dieses Energieträgers zu Adenosindiphosphat (ADP) und Phosphat (P) oder zu Adenosinmonophosphat (AMP) und Pyrophosphat (PP_i) setzt Energie frei (Doenecke et al. 2005; Koolman und Röhm 2003). Luciferasen, eine Gruppe bestimmter Enzyme, nutzen diese Energie, um Luciferin und Sauerstoff (O₂) in Oxyluciferin und Kohlenstoffdioxid (CO₂) unter Freisetzung von Licht umzuwandeln (Krämer und Prange 2016) (siehe Abbildung 7).



Abbildung 7: Darstellung der chemischen Reaktion des ATP-Biolumineszenz-Assays

Diese Reaktion macht sich das ATP-Biolumineszenz-Assay zunutze, indem das intrazelluläre ATP durch Zugabe von Luciferase und Luciferin umgewandelt wird und die Intensität des dabei freigesetzten Lichts, welche mit der Menge des vorhandenen ATPs korreliert, mit einem Plattenreader gemessen wird (Roda 2011). Um das ATP der Reaktion bereitstellen zu können müssen die zu untersuchenden Zellen/Bakterien zuvor lysiert werden, wodurch eine stufenweise Untersuchung der Zellen/Bakterien nach verschiedenen Zeitabständen nicht möglich ist (Roda 2011; Stanley 1989).

2.4.2 Resazurin-Assay

Der Redox-Indikator Resazurin, auch *Alamar blue* genannt, kann durch stoffwechselaktive Zellen/Bakterien umgesetzt werden, wobei das ursprünglich blaue, nicht-fluoreszierende Resazurin in pinkfarbenedes, fluoreszierendes Resorufin umgewandelt wird (Ahmed et al. 1994; O'Brien et al. 2000). Resazurin ist zellpermeabel und kann in physiologischer Pufferlösung suspendiert werden, wodurch eine Beobachtung der Proliferation von Zell-/Bakterienkulturen ermöglicht wird ohne diese für einzelne Messungen lysieren zu müssen (Nakayama et al. 1997; Riss et al. 2016). Durch Anregung mit Licht einer Wellenlänge von 560 nm kann nach einer Inkubationszeit von ein bis vier Stunden die Fluoreszenz des Resorufins initiiert werden, die Intensität des dabei emittierten Lichts mit einer Wellenlänge von 590 nm kann dann wiederum fluorometrisch gemessen werden (Bürgers et al. 2009b; Riss et al. 2016). Da sich die Menge des von den Zellen/Bakterien produzierten Resorufin proportional zu der Intensität der Fluoreszenz verhält, kann diese in Korrelation mit der Zell-/Bakterienzahl gesetzt werden (Nakayama et al. 1997; O'Brien et al. 2000). Abgestorbene oder stoffwechsellinaktive Zellen können keine Reduktion von Resazurin zu Resorufin katalysieren, so dass diese nicht von einem Resazurin-Assay erfasst werden (Nakayama et al. 1997; Voytik-Harbin et al. 1998).

2.4.3 Tetrazolium-Assay

Diese Assays basieren auf der Reduktion von Tetrazolium-Salzen zu Formazan und einer damit einhergehenden Farbänderung, welche spektrometrisch gemessen werden kann (Riss et al. 2016). Entsprechend der Varietät an Tetrazolium-Salzen gibt es auch unterschiedliche Assays, wobei diese in zwei Hauptgruppen differenziert werden können, welche sich in der Zellpermeabilität der Tetrazolium-Salze unterscheiden (Marshall et al. 1995). Zellpermeables Tetrazolium wird direkt innerhalb der Zelle zu ungelöstem Formazan reduziert, welches sich dann in der Zelle ablagert. Um eine Messung des Formazans zu ermöglichen, muss dieses durch Zugabe weiterer Reagenzien gelöst werden, welche zytotoxisch wirken können und

dadurch diese Assays nur eine finale Messung der viablen Zellen zulassen (Hansen et al. 1989; Riss et al. 2016). Neuere Assays verwenden Tetrazolium-Salze, die nicht zellpermeabel sind und somit aber auch nicht in den Reaktionsbereich der intrazellulären Reduktionsmittel, wie z. B. Nicotinamidadenindinucleotid (NADH), gelangen (Ishiyama et al. 1993; Scudiero et al. 1988). Diese Problematik wird durch Zuhilfenahme von Elektronenakzeptoren, beispielsweise Phenazinmethosulfat (PMS) oder Phenazinethosulfat (PES), gelöst, da diese in die Zellen eindringen und dort selbst reduziert werden können und anschließend außerhalb der Zellen bei der Reduktion des Tetrazoliums zu Formazan als Elektronendonator dienen können (Berridge et al. 2005; Riss et al. 2016; Scudiero et al. 1988).

Generell spiegeln die Tetrazolium-Assays den Metabolismus von Zellkulturen wieder, da die für die Reduktion des Tetrazoliums benötigten Elektronendonatoren Zwischenprodukte des Zellstoffwechsels sind und somit die Intensität des Farbumschlags mit der Quantität stoffwechselaktiver Zellen korreliert, inaktive oder tote Zellen werden dabei nicht erfasst (Mosmann 1983; Riss et al. 2016). Die Messung der Farbintensität erfolgt mit einem Plattenreader und wird computergestützt ausgewertet, wobei die Ergebnisse in Abhängigkeit zu Inkubationszeit, eingesetzter Reagenzienmenge, usw. variieren (Riss et al. 2016).

3 Fragestellung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Auswirkungen minimaler Unterschiede in der Kompositzusammensetzung, d. h. verschiedener Farbmischungen, auf die initiale bakterielle Besiedlung zu untersuchen. Dazu wurden In-vitro-Versuche mit Probekörpern gleicher Oberflächenkonditionierung von insgesamt 33 Kompositmaterialien von drei verschiedenen Herstellern und den Bakterienspezies *S. mutans* und *S. sanguinis* durchgeführt.

Es sollte evaluiert werden, ob die unterschiedliche Farbgebung der Komposite, d. h. die minimalen Unterschiede in der Mischung der Materialien, zu quantitativen Unterschieden in der Anlagerung von Bakterien führen kann. Des Weiteren wurden die Oberflächen der Probekörper auf Rauheit, Morphologie und freie Oberflächenenergie untersucht, um ggf. vorhandene Einflüsse zu ermitteln und beurteilen zu können.

4 Material und Methoden

4.1 Überblick über den Versuchsaufbau

1. Herstellung der Probekörper aus Kompositen von drei Herstellern und insgesamt 33 verschiedenen Testmaterialien
2. Bearbeitung der Probekörperoberflächen (Politur)
3. Messung des Mittenrauwertes (R_a) und der Oberflächenmorphologie mittels Weitfeld-Konfokalmikroskopie
4. Kontaktwinkelmessung zur Berechnung der freien Oberflächenenergie (SFE)
5. Inkubation der Probekörper mit künstlichem Speichel
6. Inkubation der Probekörper mit *S. sanguinis* oder *S. mutans*
7. ATP-Biolumineszenzmessung zur Quantifizierung der adhärenenten Bakterien
8. Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

4.2 Probekörper

Für die Versuche der vorliegenden Arbeit wurden jeweils 53 Probekörper der 33 verschiedenen Kompositmaterialien hergestellt, insgesamt also 1749 Probekörper (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Verwendete Materialien

Komposite	Hersteller	Untersuchte Farben
Ceram.X universal	Dentsply, Konstanz, DE	A1, A2, A3, A3,5, A4, BW
Venus Diamond	Heraeus Kulzer, Hanau, DE	A1, A2, A3, A3,5, A4, B2, B3, C2, D3, BL, OXDC
Grandio	VOCO, Cuxhaven, DE	A1, A2, A3, A3,5, A4, B1, B2, B3, C2, C3, D2, D3, OA2, OA3,5, Incisal, BL

(LOT-Nummern: siehe Tabelle 7 im Anhang)

Die Farben der Testmaterialien entsprechen bei den beiden Grundmaterialien Heraeus Venus Diamond und VOCO Grandio der Vita Classical Farbskala (siehe Abbildung 3), mit Ausnahme der Zusatzfarben VOCO Grandio OA2, OA3,5, Incisal und BL sowie Heraeus Venus Diamond BL und OXDC. Dabei steht die Abkürzung BL bei beiden Herstellern für *Bleach Light*, die Kürzel OA2 und OA3,5 stehen für Opaque A2 bzw. A3,5. OXDC dient als Abkürzung für *Opaque Extra Dark Chromatic*. Die Farben Dentsply Ceram.X Universal A1 – A4 dienen jeweils zum Ersatz mehrerer Farben der Vita Classical Farbskala, beispielsweise dient Dentsply Ceram.X Universal A3 dem Ersatz von verloren gegangener Zahnhartsubstanz der Farben A3, C2, D3 und D4. Dentsply Ceram.X Universal BW steht als Kürzel für *Bleach White*. Abbildung 8 zeigt Probekörper der 33 farblich verschiedenen Testmaterialien.

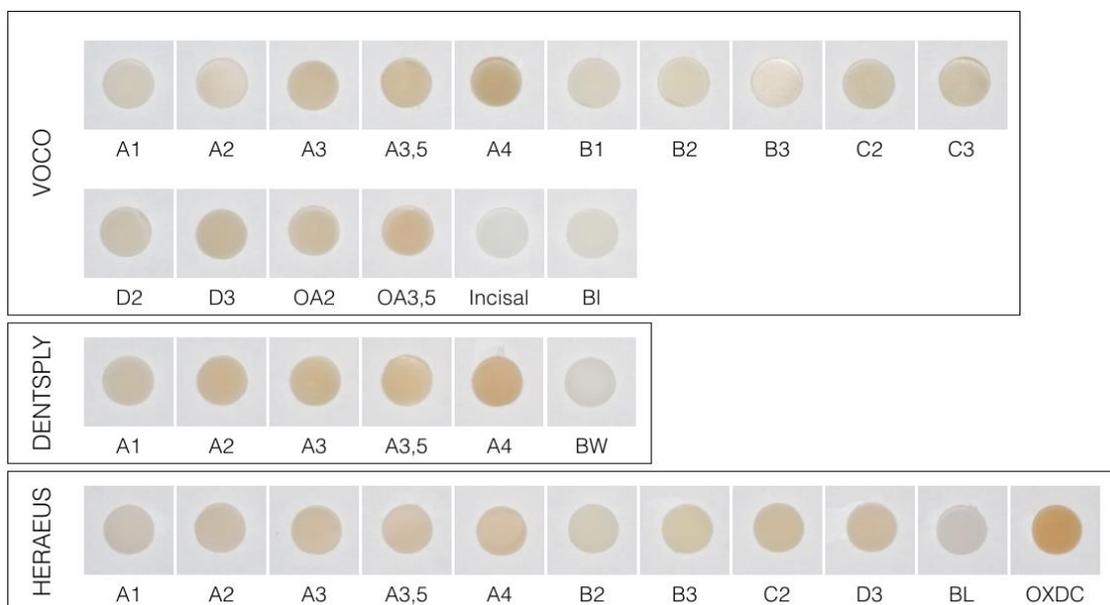


Abbildung 8: Probekörper der 33 Testmaterialien

4.2.1 Polymerisation der Probekörper

Die Verarbeitung der Komposite erfolgte streng nach Angaben der Hersteller VOCO GmbH (Cuxhaven, Deutschland), Dentsply (Konstanz, Deutschland) und Heraeus Kulzer (Hanau, Deutschland). Das lichthärtende Kompositmaterial wurde mit einem Zementspatel (1058, Carl Martin GmbH, Solingen, Deutschland) in Formen aus Dubliersilikon (Z-Dupe 900-3620, Henry Schein Dental GmbH, Langen, Deutschland) mit einem Durchmesser von 6 mm und 1,7 mm Höhe (je Testmaterial 5 weitere à 10 x 1,2 mm, siehe 4.2.2) eingebracht und mit einer Polymerisationslampe (Bluephase Style, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) mit 1200 mW/cm² und einem Spektrum von 385 – 515 nm Wellenlänge für jeweils 1 Minute ausgehärtet (siehe Abbildung 9). Nach dem Aushärten wurden die

Probekörper aus der Form entnommen, noch einmal von allen Seiten für 30 Sekunden polymerisiert und dann trocken in Zentrifugenröhrchen (Sarstedt AG, Nümbrecht, Deutschland) gelagert.

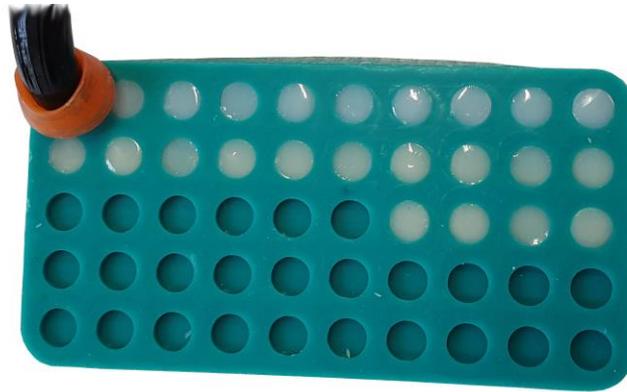


Abbildung 9: Polymerisation der Probekörper, Dubliersilikonform mit eingebrachtem Komposit und dem Lichtleiter der Polymerisationslampe

4.2.2 Bearbeitung der Probekörperoberflächen (Politur)

Zur Erzeugung einer konstanten Oberflächenqualität wurden die Probekörperoberflächen maschinell mit einer Schleif- und Poliermaschine (DIGPREP 301, Metkon, Bursa, Türkei) (siehe Abbildung 10) geglättet. Dazu wurden je zwölf Probekörper auf entsprechenden Haltern mit doppelseitig klebendem Montageband (Powerbond, tesa, Norderstedt, Deutschland) befestigt und nach einem vierstufigen Verfahren unter Wasserkühlung und gegenläufiger Drehrichtung von Schleifkopf und -scheibe bearbeitet. Eine konstante Drehzahl von Schleifkopf (100 min^{-1}) und Schleifscheibe (150 min^{-1}) wurde bei allen Arbeitsschritten beibehalten. Der erste Bearbeitungsschritt erfolgte mit einer Diamantscheibe (Metkon, Bursa, Türkei) bei einem Anpressdruck von 20 N/cm^2 und 180 Sekunden Schleifdauer. Nassschleifpapier der Körnung 400 und 1200 (Hermes Schleifmittel GmbH, Hamburg, Deutschland) wurde für die folgenden zwei Bearbeitungsschritte unter gleichen Parametern verwendet. Final wurden die Probekörper mit Nassschleifpapier der Körnung 4000 (Hermes Schleifmittel GmbH, Hamburg, Deutschland) mit 10 N/cm^2 Anpressdruck 300 Sekunden hochglanzpoliert. Nach der Bearbeitung wurden die Probekörper mit Reinstwasser (Reinstwasseranlage arium pro,

Sartorius, Göttingen, Deutschland) gewaschen, an der Luft getrocknet und schließlich bis zur weiteren Verwendung in Zentrifugenröhrchen gelagert.

Es wurden zwei Größen von Probekörpern hergestellt, da für die Messung der SFE, der Rauheit und der Oberflächenmorphologie technisch bedingt Probekörper größeren Durchmessers benötigt werden, welche wiederum für die Verwendung in 48-Well-Platten bei der eigentlichen Versuchsdurchführung ungeeignet sind. Die fertigen kleinen Probekörper haben einen Durchmesser von 6 mm und eine Höhe von 1,5 mm, die großen Probekörper sind 10 mm im Durchmesser und 1 mm hoch.



Abbildung 10: Schleif- und Poliermaschine DIGIPREP 251 (Metkon)

4.3 Mittenrauwert (R_a) und Oberflächenmorphologie

Die Oberflächenanalyse der Probekörper erfolgte unter Zuhilfenahme eines computergesteuerten Weitfeld-Konfokalmikroskops (Smartproof 5, Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland) (siehe Abbildung 11). Für die Erstellung der Bilder bzw. die Steuerung des Mikroskops wurde das Programm Zeiss Efficient Navigation (ZEN, Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland) eingesetzt, die Auswertung erfolgte dann mit dem Programm Confomap (Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland). Von jeweils 5 Probekörpern der 33 Testmaterialien wurde, beginnend mit einem Objektiv mit 2,5-facher Vergrößerung, ein Teilbereich der Oberfläche von 4 x 4 mm fokussiert. Durch schrittweise Änderung der Objektive und jeweils weiterer Fokussierung bis zu einem Objektiv mit 20-facher

Vergrößerung wurde der dargestellte Teilbereich auf $225 \times 225 \mu\text{m}$ bei deutlich gesteigerter Detailaufnahme verkleinert. Da die Oberflächen der Probekörper produktionsbedingt nicht komplett eben waren, wurde mit der Software ein sogenannter Z-Stapel festgelegt, ein vertikaler Bereich von etwas unterhalb des tiefsten Punktes bis leicht oberhalb des höchsten Punktes des dargestellten Teilbereichs der Oberfläche. Bei der digitalen Erfassung des Oberflächenareals wurden dann automatisiert schichtweise Einzelaufnahmen von den Ebenen des Z-Stapels hergestellt. Bedingt durch die Neigung der Oberfläche wurde pro Aufnahme immer nur ein Teil der Ebene fokussiert dargestellt. Durch softwaregestützte Berechnung wurde aus den Einzelaufnahmen dann vollautomatisch eine detailscharfe Gesamtdarstellung der Oberflächenmorphologie erstellt. Die Anzahl der verschiedenen Bildebenen ist dabei abhängig von der Neigung der Oberfläche und der geforderten Bildqualität. Durch kombinierte Weitfeld-Konfokalaufnahmen wurden so dreidimensionale Datensätze von Teilbereichen der Oberflächen erstellt, aus denen durch computergestützte Berechnung der Mittenrauwert R_a ermittelt wurde.

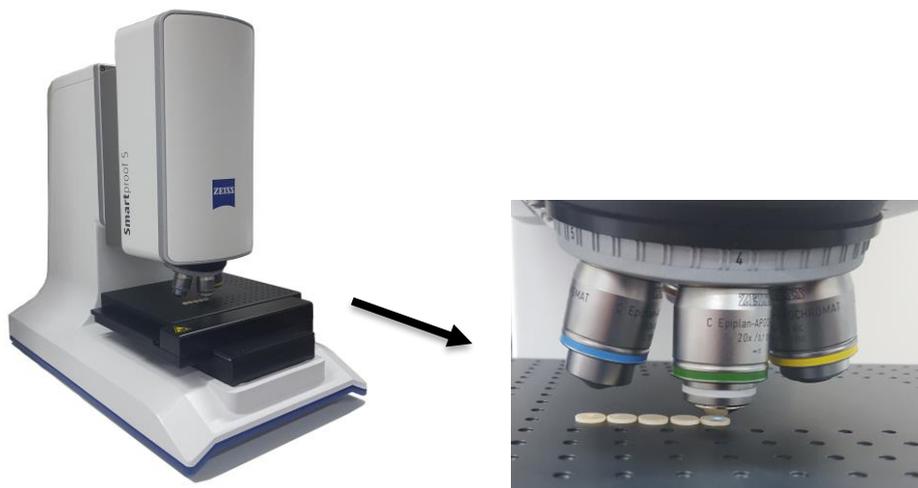


Abbildung 11: Weitfeld-Konfokalmikroskop Smartproof 5 (Zeiss) mit Probekörpern

4.4 Freie Oberflächenenergie (SFE)

Durch Kontaktwinkelmessung mittels *drop shape analyzer* (DSA25, Krüss, Hamburg, Deutschland) (siehe Abbildung 12) und computergestützter Berechnung wurde die freie Oberflächenenergie (SFE) ermittelt. Dazu wurden nacheinander je fünf Probekörper der einzelnen Versuchsgruppen mit 2-Propanol (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) gereinigt und dann mit zwei verschiedenen Flüssigkeiten, vollentsalztem Wasser und Diiodmethan, automatisch benetzt. Die Messung und Auswertung der Kontaktwinkel, sowie

die Berechnung der SFE erfolgte mit der Software ADVANCE (Krüss, Hamburg, Deutschland). Für die Messung wurde mit der Software ein standardisiertes Procedere programmiert, bei dem zwei Sekunden nach Zugabe der Flüssigkeiten vom Computer zehn Messwerte in einem Intervall von je einer Sekunde registriert, die Werte dann gemittelt und aus den Mittelwerten schließlich die SFE berechnet wurde.



Abbildung 12: Kontaktwinkelmessgerät DSA 25 (Krüss)

4.5 Vorbereitung der Versuchsmedien und -lösungen

4.5.1 Nährmedium

Für die Anzucht der Bakterienkulturen von *S. mutans* bzw. *S. sanguinis* wurde als Nährmedium in den Versuchen der vorliegenden Arbeit den Empfehlungen der DSMZ (Leibniz-Institut DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Deutschland) folgend das *trypticase soy yeast extract medium* (DSMZ-Medium Nr. 92) verwendet. Für die Herstellung des Mediums wurden 30 g *trypticase soy broth* (Tryptic Soy Broth, BD, Le Pont de Claix, Frankreich) und 3 g *yeast extract* (Select Yeast Extract, Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) durch schrittweise Zugabe von einem Liter Reinstwasser (Reinstwasseranlage arium pro, Sartorius, Göttingen, Deutschland) gelöst. Durch Zugabe von 25 %-iger Salzsäure (AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) oder 20 %-iger

Natronlauge (AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) wurde der pH-Wert auf 7,0 – 7,2 eingestellt. Das so hergestellte *tripticase soy yeast extract medium* (DSMZ-Medium Nr. 92) wurde in Laborflaschen (Labsolute, Th.Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, Deutschland) abgefüllt, sterilisiert (Autoklav: Systec VX-95, Systec GmbH, Linden, Deutschland) und schließlich bei 5 °C dunkel gelagert.

4.5.2 PBS – *Phosphate-buffered saline*

Zur Herstellung der Phosphatgepufferten Salzlösung (PBS, *phosphate-buffered saline*) wurden 8 g Natriumchlorid (NaCl) (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), 0,2 g Kaliumchlorid (KCl) (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), 1,425 g Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4) (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) und 0,2 g Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4) (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) in einem Liter Reinstwasser (Reinstwasseranlage arium pro, Sartorius, Göttingen, Deutschland) gelöst. Auch diese Lösung wurde dann in Laborflaschen abgefüllt und sterilisiert, jedoch erfolgte die Lagerung bei Raumtemperatur.

4.5.3 Künstlicher Speichel

Der künstliche Speichel wurde aus einem Liter PBS (siehe 4.5.2), 850 mg Mucin (Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, USA), 10 mg Lysozym (Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, USA), 1 g alpha-Amylase (Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) und 40 mg Albumin (Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) hergestellt. Die vier pulverförmigen Komponenten wurden dazu langsam mit einem Magnetrührer im PBS gelöst. Die Lösung wurde anschließend mit Sterilfiltern (0,22 µm, GP Millipore Express, Millipore, Burlington, Massachusetts, USA) unterstützt durch eine Vakuumpumpe (PJ 9080-023.3, Neuberger, Freiburg, Deutschland) sterilfiltriert. Danach wurde der künstliche Speichel unter sterilen Bedingungen in 50-ml-Zentrifugenröhrchen abgefüllt und bei -18° C gelagert.

4.5.4 Vialight plus kit

Das Vialight plus kit (Lonza Inc., Walkersville, Maryland, USA) beinhaltet drei Komponenten. *Cell-lysis-reagent* dient der Lyse auszuwertender Zellen oder Keime und ist bereits gebrauchsfertig in den Sets enthalten. *ATP monitoring reagent plus* (AMR+) erzeugt im Versuch die Lumineszenzreaktion (siehe Abbildung 7), es lag dem Assay-Kit gefriergetrocknet bei und wurde mit einem ebenfalls beiliegenden Tris-Acetat-Puffer vor der Versuchsdurchführung den Herstellerangaben entsprechend unter sterilen Bedingungen gelöst und

bis zur Verwendung im Versuch in Zentrifugenröhrchen à 10 ml bei -18 °C (maximal zwei Monate laut Hersteller) gelagert.

4.6 Versuchsvorbereitung

Alle Arbeitsschritte der Versuchsvorbereitung und -durchführung wurden unter einer Sicherheitswerkbank (HERASAFE KS 12, Heraeus, Hanau) durchgeführt.

4.6.1 Wochenkulturen der Bakterien

In der vorliegenden Arbeit dienten Bakterien in Kryokulturen der DSMZ als Grundlage für Wochenkulturen von *Streptococcus sanguinis* (DSMZ-Nr. 20068) und *Streptococcus mutans* (DSMZ-Nr. 20523). Die Lagerung der Kryokulturen findet bei -80 °C statt, zur Anzucht der Wochenkulturen wurden einzelne Kryokulturen aufgetaut, von denen dann 10 µl in 10 ml Nährmedium resuspendiert wurden. Durch Inkubation von 16 Stunden in einem Tischorbitalschüttler (MaxQ 4000, Fisher Scientific, Schwerte, Deutschland) bei 37 °C und 100 min⁻¹ wurden bestmögliche Bedingungen geschaffen um eine Vermehrung der Bakterien zu begünstigen. Diese zeigt sich durch zunehmende Trübung des Nährmediums. Mittels Messung der optischen Dichte (OD) (siehe 4.7.2) wurde dieses verifiziert. Bis zur weiteren Verwendung wurden die Wochenkulturen dann bei 5 °C gelagert.

4.6.2 Versuchskulturen

Einen Tag vor Beginn der Versuche wurde aus den bestehenden Wochenkulturen von *S. sanguinis* bzw. *S. mutans* (je nach Versuch) eine neue Kultur angesetzt. Dazu wurden die Bakterienkulturen entsprechend einer Verdünnung von 1:1000 in einem Erlenmeyerkolben (Schott AG, Mainz, Deutschland) in Nährmedium resuspendiert und anschließend für 16 Stunden bei 37 °C und 100 min⁻¹ inkubiert.

4.6.3 Vorbereitung der 48-Well-Platten

Ebenfalls einen Tag vor der Versuchsdurchführung wurden zwei 48-Well-Platten (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) mit Probekörpern beschickt. Die Probekörper wurden zuvor in 70 %-igem Ethanol (Chemsolute, Th.Geyer, GmbH & Co. KG, Renningen, Deutschland) in Bechergläsern (Labsolute, Th.Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, Deutschland) fünf Minuten desinfiziert, dabei wurden die Gläser mehrfach geschwenkt. Das Ethanol wurde danach abgeschüttet und die Probekörper in fünf Zyklen mit sterilem Reinstwasser gereinigt.

Nach Trocknung der Probekörper wurde Dubliersilikon (Z-Dupe 900-3622, Henry Schein Dental GmbH, Langen, Deutschland) in einem Verhältnis 1:1 (Basis : Katalysator) in einer Petrischale manuell angerührt und mittels einer 10- μ l-Impfschlinge (Sarstedt AG, Nümbrecht, Deutschland) in 48-Well-Zellkulturplatten eingebracht, wobei auf eine vollständige Benetzung der Well-Böden geachtet wurde. Vor Aushärtung des Silikons erfolgte das Einbringen der Probekörper in die 48-Well-Platten mit einer Pinzette. Dabei entsprach die Anordnung der Probekörper dem in Abbildung 13 dargestellten Schema.

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	C	G	G	G	G	G	G	G
B	PK A							
C	PK B							
D	PK C							
E	PK D							
F	PK E							

Abbildung 13: Schematische Darstellung der Probekörperanordnung in den 48-Well-Platten, PK = Probekörper; A, B, C, D, E = Materialgruppen; G = Glas; C = Kontrolle

Pro Material und Durchgang wurden acht Probekörper in die 48-Well-Platte eingebracht, wobei je ein Probekörper als Nullprobe, also ohne Inkubation mit Bakterien im Versuch mitlief (siehe 4.7.3). Jedes Material wurde in drei Durchgängen pro Bakterienart getestet, wobei in jedem Durchgang neue Probekörper und frische Bakterienkulturen verwendet wurden. Pro Bakterienart und/oder 48-Well-Platte wurde eine Reihe Glasprobekörper eingeklebt, bei denen ebenfalls ein Probekörper als Nullprobe diente.

Nach dem vollständigen Aushärten des Dubliersilikons (Z-Dupe 900-3622, Henry Schein Dental GmbH, Langen, Deutschland) wurden die Wells bis zur vollständigen Bedeckung mit sterilem Reinstwasser beschickt und abgedeckt bei 5 °C bis zum Versuchsbeginn am nächsten Tag gelagert.

Zusätzlich wurde eine dem jeweiligen Versuch entsprechend benötigte Menge sterilen künstlichen Speichels über Nacht bei 5 °C langsam aufgetaut.

4.7 Versuchsdurchführung

4.7.1 Inkubation mit künstlichem Speichel

Zu Beginn des Versuchstages wurde das sterile Reinstwasser aus den Wells der beiden am Vortag vorbereiteten 48-Well-Platten mit einem Flüssigkeit-Absaugsystem (BVC professional, Vacuubrand, Wertheim, Deutschland) abgesaugt. Nachfolgend wurden die Wells mit je 1 ml künstlichem Speichel beschickt und eine einstündige Inkubation (MaxQ 4000, fisher scientific, Schwerte, Deutschland) bei 37 °C und 55 min⁻¹ gestartet.

4.7.2 Präparation der Bakterienkultur

Nach Ablauf der 16-stündigen Inkubation wurde die Bakterienkultur in zwei 50-ml-Zentrifugenröhrchen aufgeteilt, 400 µl der Kultur wurden in eine Halb-Mikro-Küvette (Sarstedt AG, Nümbrecht, Deutschland) und weitere 1,2 ml in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen (Sarstedt AG, Nümbrecht, Deutschland) überführt. Anhand der 400 µl in der Halb-Mikro-Küvette wurde die Extinktion der Bakterienkultur durch Messung der optischen Dichte (λ 600 nm) mit einem Photometer (BioPhotometer, eppendorf AG, Hamburg Deutschland) bestimmt. Dazu wurde das Photometer zunächst mit sterilem Nährmedium tariert, wodurch der folgende Messwert der Bakterienkultur rein bakteriell bedingt war. Die weiteren 1,2 ml Bakterienkultur dienten zur Kontrolle der Kulturen durch Messung des pH-Werts mittels pH-Meter (inoLab pH7110, Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co. KG, WTW, Weilheim in OB, Deutschland).

Die Bakterienkultur in den Zentrifugenröhrchen wurde bei 3200 min⁻¹ für fünf Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert (Megafuge 8R, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Das Bakterien-Pellet am Boden des Röhrchens wurde weiterverwendet und der Überstand wurde verworfen. Anschließend wurden die Bakterien in PBS durch mehrfaches Aufziehen und Ausstoßen mit einer 10-ml-Pipette (Sarstedt AG, Nümbrecht, Deutschland) und einem Pipettierhelfer (accu-jet pro, Brand GmbH & CO KG, Wertheim, Deutschland) resuspendiert bis visuell keine Bakterienagglomerate mehr erkennbar waren. Es folgte eine erneute Zentrifugation bei gleichen Parametern mit anschließendem Verwerfen des Überstandes. Die Schritte des Resuspendierens, Zentrifugierens und Verwerfens des Überstandes wurden nochmals wiederholt, um die Bakterien von möglichen letzten Resten des Nährmediums zu trennen. Nach erneutem Resuspendieren der Bakterien in PBS wurde die gesamte Bakterienkultur in ein Becherglas auf einem Magnetrührer (Big Squid, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland) überführt, wodurch eine homogene,

gleichbleibende Verteilung der Bakterien im PBS gewährleistet wurde. Von dieser Bakteriensuspension wurden 400 μl in eine Halb-Mikro-Küvette überführt, um eine erneute Messung der OD (λ 600 nm) mit dem nun zuvor auf PBS tariertem Photometer durchzuführen. Durch schrittweise Zugabe von PBS und wiederholten Messungen der OD wurde die Bakterienkultur auf eine OD von 0,3 eingestellt.

4.7.3 Inkubation mit Bakterien

Nach einstündiger Inkubation wurde der künstliche Speichel aus den Wells der zwei 48-Well-Platten entfernt. Anschließend wurden in jedes Well der Spalten 1 – 7 1 ml der Bakterienkultur zugegeben, die Wells der Spalte 8 (siehe Abbildung 14) wurden mit sterilem PBS beschickt und dienten als Nullprobe (*blank*) ohne bakterielle Inkubation. Die beiden 48-Well-Platten wurden anschließend in den Tischorbitalschüttler überführt und eine Inkubation bei 37 °C und 55 min^{-1} für zwei Stunden gestartet.

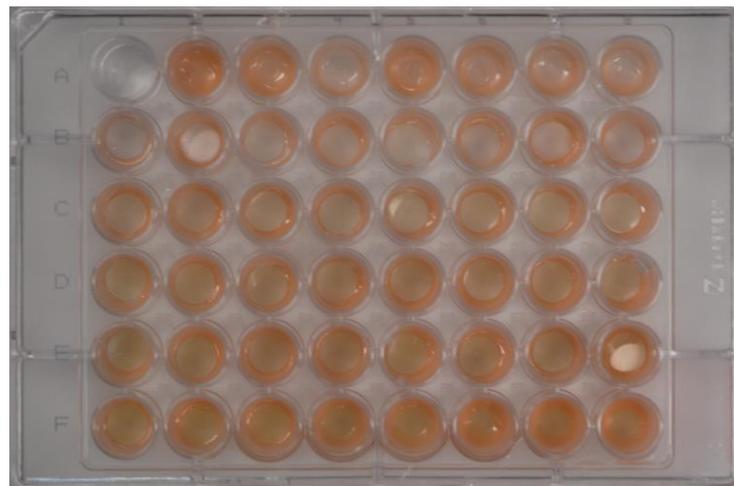


Abbildung 14: 48-Well-Platte mit eingebrachten Probekörpern

4.7.4 ATP-Biolumineszenz-Assay

Eine Stunde vor Ablauf der Inkubationszeit wurden 10 ml *ATP monitoring reagent plus* aus der Lagerung bei -18 °C genommen und langsam bei Raumtemperatur aufgetaut.

Nach zweistündiger Inkubation wurden die Kulturüberstände, bzw. das PBS bei den Nullproben, am Rand der Wells abgesaugt, je Well 1 ml steriles PBS zugegeben und erneut abgesaugt. Dieser Vorgang wurde ein zweites Mal wiederholt. Dadurch wurden nicht adhärenente Bakterien aus den Wells entfernt.

Anschließend wurden in jedes Well 150 μl *Cell-lysis-reagent* (Vialight Plus Assay Kit, Lonza Inc., Walkersville, Maryland, USA) pipettiert. Es folgte eine Inkubation zur Zelllyse von zehn Minuten bei Raumtemperatur. Von dem Bakterienlysat wurden dann jeweils 100 μl dem Pipettierschema entsprechend (siehe Abbildung 15) in eine opake 96-Well-Platte (Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Österreich) überführt, um so bei der späteren Messung der Lumineszenz Messfehler durch Lichtstreuung zu vermeiden. Das *ATP monitoring reagent plus* wurde mittels einer 12-fach-Pipette (ErgoOne Multi-Channel Pipette, StarLab GmbH, Hamburg, Deutschland) zeitgleich in alle Wells einer jeden Reihe gegeben und weitere fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.

Abschließend erfolgte die automatische Messung der Lumineszenz im Plattenreader (Fluostar Omega, BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Deutschland) mit der entsprechenden Software (Omega, BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Deutschland). Dazu wurde im Programm die Anordnung der 96-Well-Platte mit den entsprechenden Materialproben hinterlegt. Danach wurde das Testverfahren für Lumineszenz (*gain*: 3600) ausgewählt, die Messung erfolgte vollautomatisch. Die Auswertung der Messung wurde mit dem Programm MARS Data Analysis Software (BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Deutschland) durchgeführt, die Messergebnisse wurden in rlu (*relative light unit*) angegeben.

48-Well-Platte I

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	C	G + B	G + B	G + B	G + B	G + B	G + B	G o. B
B	PK + B	PK o. B						
C	PK + B	PK o. B						
D	PK + B	PK o. B						
E	PK + B	PK o. B						
F	PK + B	PK o. B						

48-Well-Platte II

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	C	G + B	G + B	G + B	G + B	G + B	G + B	G o. B
B	PK + B	PK o. B						
C	PK + B	PK o. B						
D	PK + B	PK o. B						
E	PK + B	PK o. B						
F	PK + B	PK o. B						

96-Well-Platte

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	I A8	I B8	I C8	I D8	I E8	I F8	II A8	I A8	II C8	II D8	II E8	II F8
B	I A7	I B7	I C7	I D7	I E7	I F7	II A7	I B8	II C7	II D7	II E7	II F7
C	I A6	I B6	I C6	I D6	I E6	I F6	II A6	I C7	II C6	II D6	II E6	II F6
D	I A5	I B5	I C5	I D5	I E5	I F5	II A5	I D8	II C5	II D5	II E5	II F5
E	I A4	I B4	I C4	I D4	I E4	I F4	II A4	I E8	II C4	II D4	II E4	II F4
F	I A3	I B3	I C3	I D3	I E3	I F3	II A3	I F8	II C3	II D3	II E3	II F3
G	I A2	I B2	I C2	I D2	I E2	I F2	II A2	II B2	II C2	II D2	II E2	II F2
H	I A1	I B1	I C1	I D1	I E1	I F1	II A1	II B1	II C1	II D1	II E1	II F1

Abbildung 15: Schema zur Darstellung der Überführung des Zellysats in die 96-Well-Platte
 48-Well-Platten: PK = Probekörper; G = Glas; B = Bakterien; C = Kontrolle
 96-Well-Platte: Römische Zahl + Hintergrundfarbe = Angabe der 48-Well-Platte
 Zahl und Buchstabe = Angabe des Wells der 48-Well-Platte

4.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Untersuchungsergebnisse erfolgte mit der Statistik-Software R, Version 3.4.0 (The R Foundation for Statistical Computing (www.r-projekt.org), Wien, Österreich), dabei wurde das Signifikanzniveau bei allen durchgeführten statistischen Tests auf $\alpha = 5\%$ festgelegt.

Von den gemessenen Werten der ATP-Biolumineszenz-Assays wurde der gemessene Wert der Nullprobe (*blank*) des entsprechenden Materials (siehe 4.7.3) subtrahiert, wodurch der Wert auf die rein bakteriell bedingte Lumineszenz reduziert wurde. Aus den so korrigierten sechs Werten der Proben von den Glasprobekörpern wurde ein Mittelwert gebildet. Dieser diente dem Gleichsetzen der 48-Well-Platten, um so die Vergleichbarkeit aller Versuche untereinander zu optimieren. Dazu wurden alle der zuvor bereits durch Nullproben korrigierten Werte der Probekörper der Versuchsmaterialien durch den Mittelwert der Glasprobekörper der jeweiligen 48-Well-Platte dividiert. Diese Endwerte wurden schließlich der statistischen Analyse zugeführt.

Die Endwerte der ATP-Biolumineszenz-Assays wurden einer BoxCox-Transformation zur Varianzstabilisierung unterzogen, das Verhältnis der Messwerte zueinander wurde dadurch nicht beeinflusst. Die nun mögliche Varianzanalyse (ANOVA, *analysis of variance*) wurde im Anschluss durchgeführt. Hierbei wurden Material, Bakterium und Farbe als unabhängige Variablen angenommen und es zeigten sich signifikante Unterschiede. Die notwendigen Post-hoc-Analysen erfolgten durch den Vergleich der Kleinste-Quadrate-Mittelwerte, wodurch ermittelt wurde zwischen welchen Materialien sich die signifikanten Unterschiede zeigten.

Mit den arithmetischen Mittenrauwerten sowie den Ergebnissen der Kontaktwinkelmessung wurden ebenfalls ANOVA durchgeführt. Darauf erfolgten paarweise Vergleiche aller 33 Gruppen mit dem Tukey-post-hoc-Test zur Lokalisation der signifikanten Unterschiede.

Als Zusammenhangsmaß für Rauheit bzw. freie Oberflächenenergie und die Lumineszenzwerte wurde der Rangkorrelationskoeffizient Kendall's tau sowie der dazugehörige p-Wert ermittelt. Da multiple Tests vorgenommen wurden, wurden die p-Werte mit der Bonferroni-Holm-Methode adjustiert.

5 Ergebnisse

5.1 Erläuterung zu den Darstellungen

Die ermittelten Werte der vorliegenden Arbeit sind teilweise in *whisker-box-plots* dargestellt (siehe Abbildung 16). Ein Rechteck, die sogenannte *box*, beinhaltet dabei die mittleren 50 % der Werte und wird durch das untere Quartil (Q1) und das obere Quartil (Q3) begrenzt. Werte ober- und unterhalb der *box* werden durch *whisker*, Linien die den Bereich der *box* verlängern, angezeigt, diese sind hier jedoch auf die anderthalbfache Länge der Box begrenzt. Liegen weitere Werte noch außerhalb dieses Bereichs werden sie als Punkt angezeigt und stellen „Ausreißer“ dar. Sind solche „Ausreißer“ nicht vorhanden, zeigen die Enden der *whisker* die Maximal- bzw. Minimalwerte an. Der Medianwert wird jeweils als Strich dargestellt, der die Box unterteilt.

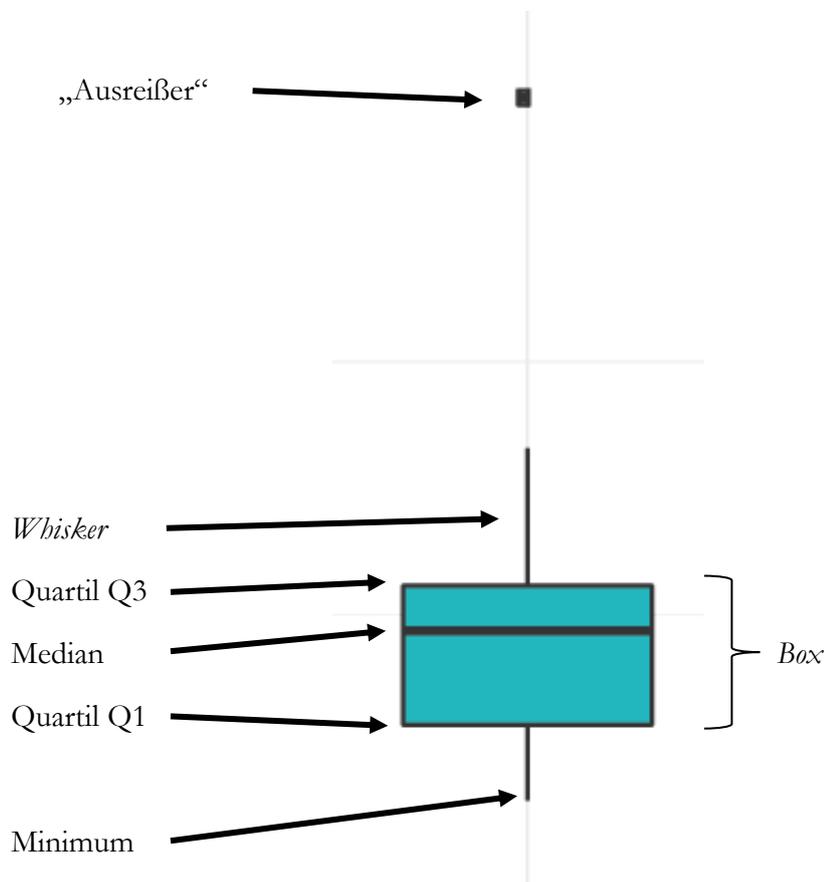


Abbildung 16: Aufbau der *whisker-box-plots*

5.2 Rauheit

Die ermittelten arithmetischen Mittenrauwerte R_a der 33 Testmaterialien sind in Abbildung 17 dargestellt.

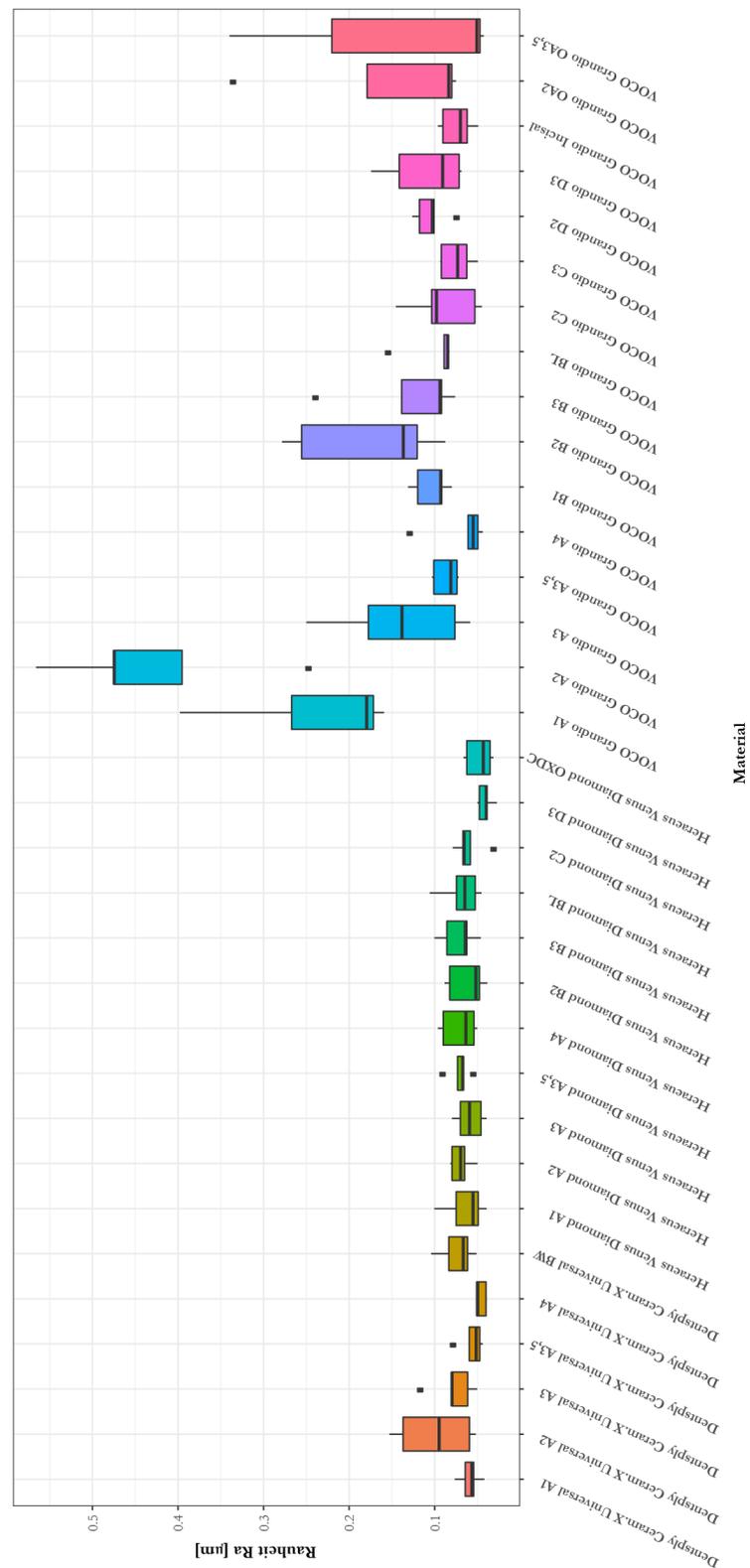


Abbildung 17: Mittenrauwerte (R_a) [μm] der 33 getesteten Kompositmaterialien (Maximum, Q3, Median, Q1, Minimum)

Es zeigten sich bei allen Testmaterialien mediane Mittenrauwerte von $R_a < 0,2 \mu\text{m}$, einzig das Material VOCO Grandio A2 lag mit einem Medianwert von $0,47 \mu\text{m}$ darüber.

Die Varianzanalyse (ANOVA) der Mittenrauwerte ergab mit $p < 0,001$ signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Materialien. Eine Post-hoc-Analyse mit 528 paarweisen Vergleichen zeigte in 60 Fällen signifikante Unterschiede, wobei in all diesen Vergleichen mit signifikanten Unterschieden eines von den drei Materialien VOCO Grandio A1, A2 oder B2 involviert war.

Anhand des Materials Dentsply Ceram.X in der Farbe A3 sind in Abbildung 18 beispielhaft zwei Messbereiche von Probekörperoberflächen mit einer Kantenlänge von $105 \mu\text{m}$ mit den entsprechenden Profilschnitten dargestellt. Dabei zeigt die linke Darstellung eine glatte Oberfläche, welche nach dem Standardprotokoll (siehe 4.2.2) bearbeitet wurde. Die rechte Darstellung ist von einer sandgestrahlten Oberfläche (Al_2O_3 , $110 \mu\text{m}$, 2 bar) und dient als Vergleich.

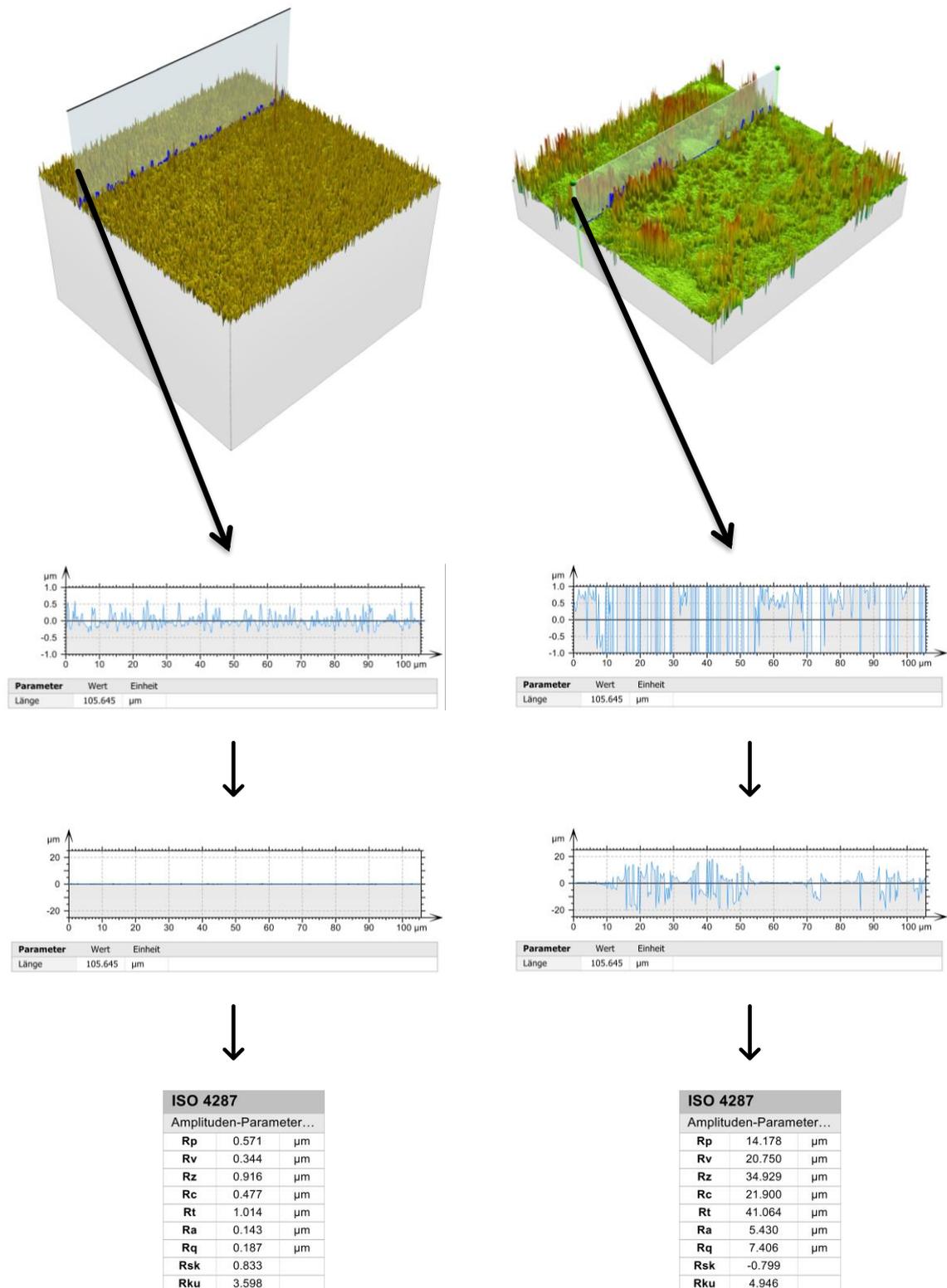


Abbildung 18: Aufnahme einer Standardprobekörperoberfläche (links) und einer sandgestrahlten Probekörperoberfläche (Al₂O₃, 110 μm, 2 bar, rechts) mittels Weitfeld-Konfokalmikroskop, entsprechende Profilschnitte mit verschiedenen Skalierungen (+1 – 1 μm, oben und +25 – -25 μm, unten), Rauheitsparameter der Profilschnitte

5.3 Morphologie

Die Abbildung 19, Abbildung 20 und Abbildung 21 zeigen beispielhaft Teilbereiche der Oberflächenanalysen der Probekörper von den drei verschiedenen Materialien (Herstellern) in zwei Farbkodierungen (A1 und A4). Nach dem standardisierten Polierprotokoll waren keine Vertiefungen, Kratzer, Rillen oder andere Oberflächenmodifikationen zu erkennen, die gesamten Oberflächen waren durchgehend, gleichmäßig und zwischen den verschiedenen Testmaterialien vergleichbar glatt.

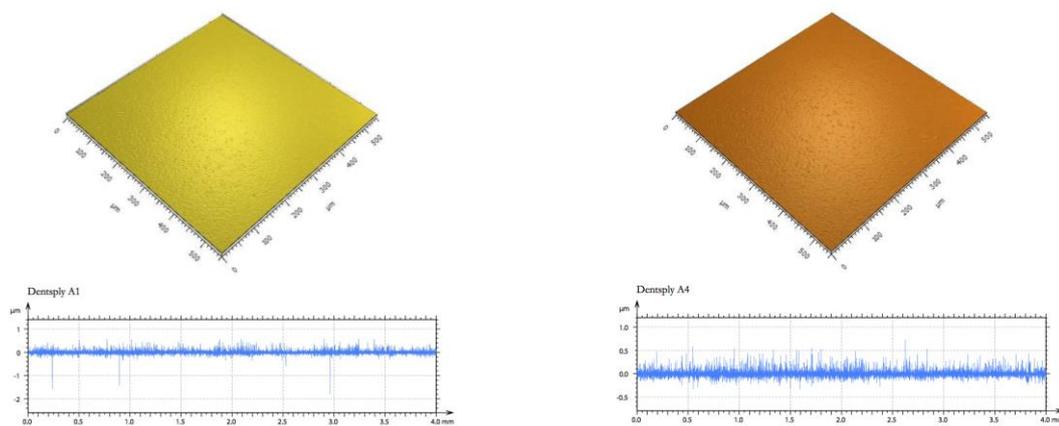


Abbildung 19: 3D-Darstellungen von Teilbereichen ($105 \times 105 \mu\text{m}$) der Probekörperoberflächen mit graphischen Darstellungen des Rauheitsprofils von Dentsply Ceram.X Universal A1 (links) und Dentsply Ceram.X Universal A4 (rechts)

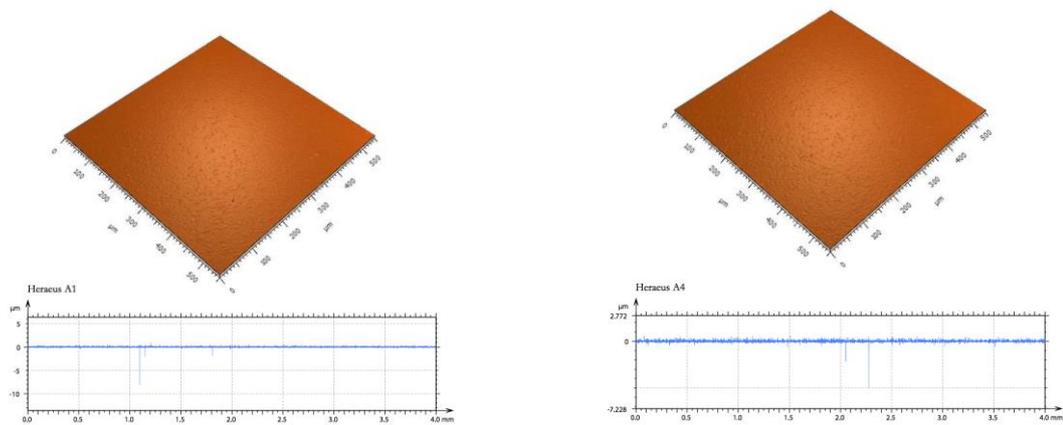


Abbildung 20: 3D-Darstellungen von Teilbereichen ($105 \times 105 \mu\text{m}$) der Probekörperoberflächen mit graphischen Darstellungen des Rauheitsprofils von Heraeus Venus Diamond A1 (links) und Heraeus Venus Diamond A4 (rechts)

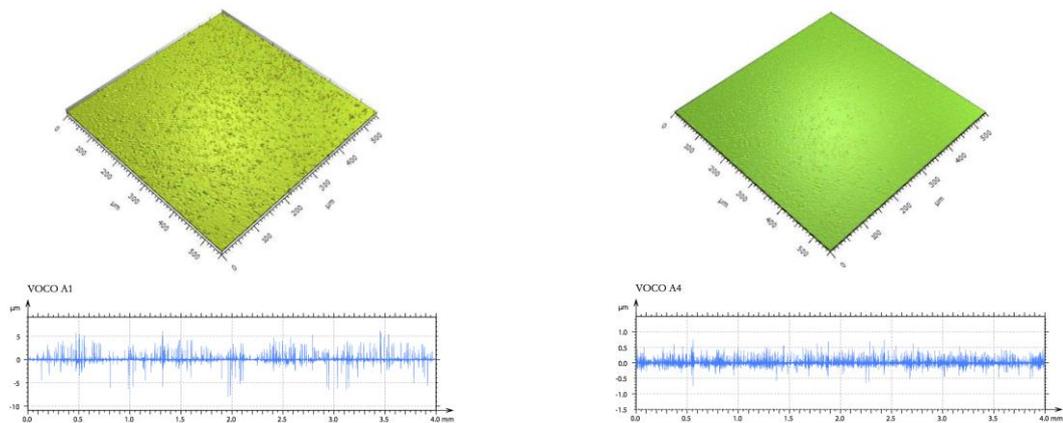


Abbildung 21: 3D-Darstellungen von Teilbereichen ($105 \times 105 \mu\text{m}$) der Probekörperoberflächen mit graphischen Darstellungen des Rauheitsprofils von VOCO Grandio A1 (links) und VOCO Grandio A4 (rechts)

5.4 Freie Oberflächenenergie (SFE)

Die gemessenen Werte der freien Oberflächenenergie sind in Abbildung 22 dargestellt.

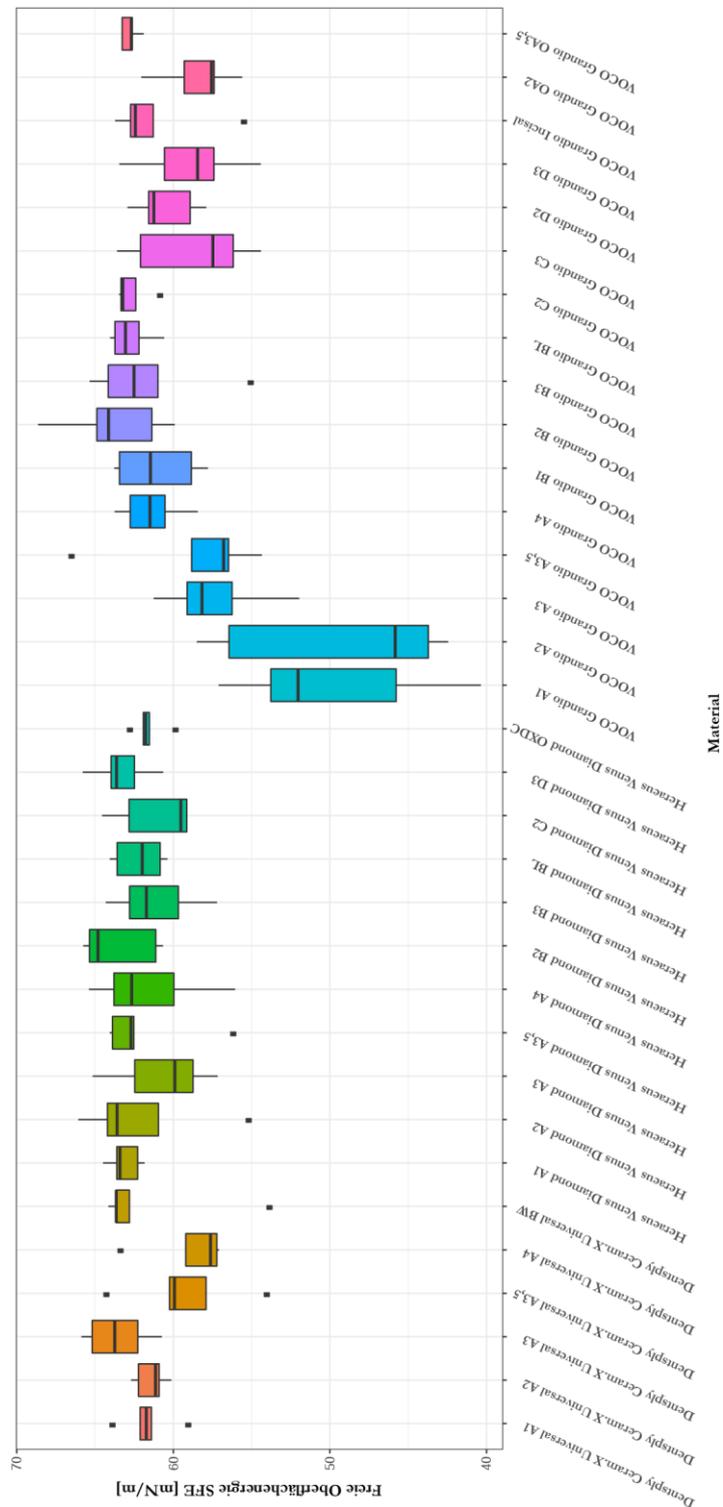


Abbildung 22: Freie Oberflächenenergie [mN/m] der 33 Testmaterialien (Maximum, Q3, Median, Q1, Minimum)

Die Medianwerte der SFE von 31 der 33 Testmaterialien lagen zwischen 56,79 mN/m (VOCO Grandio A3,5) und 64,81 mN/m (Heraeus Venus Diamond B2), niedrigere Werte zeigten VOCO Grandio A1 mit 52,03 mN/m und VOCO Grandio A2 mit 45,83 mN/m.

Die Varianzanalyse (ANOVA) der Werte der freien Oberflächenenergie ergab mit $p < 0,001$ signifikante Unterschiede zwischen den Materialien. Eine Post-hoc-Analyse mit 528 paarweisen Vergleichen ergab in 60 Fällen signifikante Unterschiede, wobei in allen Vergleichen mit signifikanten Unterschieden eines der zwei Materialien VOCO Grandio A1 oder A2 involviert war.

5.5 Bakterielle Adhäsion

Die Messung der Lumineszenz (d. h. der Quantität der adhärenenten Keime) bei den ATP-Biolumineszenz-Assays ergab die in den Abbildungen 23 und 24 dargestellten Werte (siehe auch Tabelle 8 im Anhang).

Bei Versuchen mit *S. mutans* lagen die Werte zwischen dem Minimum von 0,1 rlu bei VOCO Grandio A4 und dem Maximum von 4,36 rlu bei Heraeus Venus Diamond A3,5. Die Medianwerte der 33 Testmaterialien reichten dabei von 0,5 rlu bei VOCO Grandio BL bis 1,12 rlu bei VOCO Grandio OA2. Bei Versuchen mit *S. sanguinis* ergab sich ein Minimum von 0 rlu bei Dentsply Ceram.X Universal A4 und ein Maximum von 4,9 bei Heraeus Venus Diamond A2. Der Minimalwert 0 rlu ergab sich in zwei von 21 Proben des o. g. Materials aus einem höheren Lumineszenzwert der Nullprobe gegenüber den Werten bei den zwei Probekörpern, sodass durch die Nullprobenkorrektur in diesen beiden Fällen ein negativer Wert entstand. Die Medianwerte der Versuche mit *S. sanguinis* lagen zwischen 0,41 rlu bei VOCO Grandio A4 und 2,09 rlu bei Heraeus Venus Diamond A2.

Die Varianzanalyse (ANOVA) der BoxCox-transformierten Endwerte ergab eine Heterogenität der Varianzen in Bezug auf das Grundmaterial (Hersteller) mit $p = 0,0099$ und bezüglich der Farbe und Bakterienart je mit $p < 0,001$, d. h. bereits innerhalb jeder dieser drei Variablen gab es signifikante Unterschiede der Bakterienanlagerung zwischen den Testmaterialien. Es zeigten sich Interaktionseffekte zwischen Grundmaterial (entsprechend den Herstellern) und Farbe, sowie zwischen Farbe und Bakterienart je mit $p < 0,001$. Bei der Kombination zwischen Grundmaterial (Hersteller) und Bakterium lag dieser Effekt an der Grenze zur Signifikanz $p = 0,0508$. Des Weiteren konnte ein dreifacher Interaktionseffekt von Grundmaterial (Hersteller), Farbe und Bakterium belegt werden, $p < 0,001$.

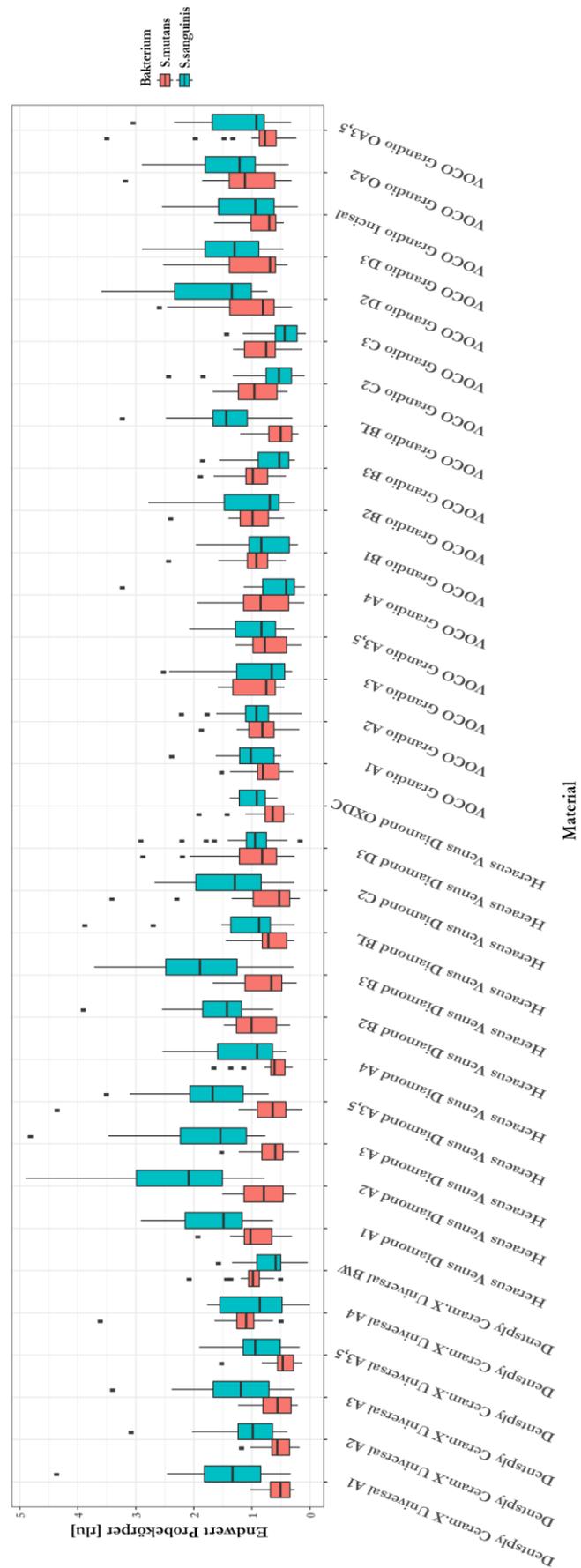


Abbildung 23: Endwerte der Lumineszenzmessung der 33 Testmaterialien [flu] (Maximum, Q3, Median, Q1, Minimum)

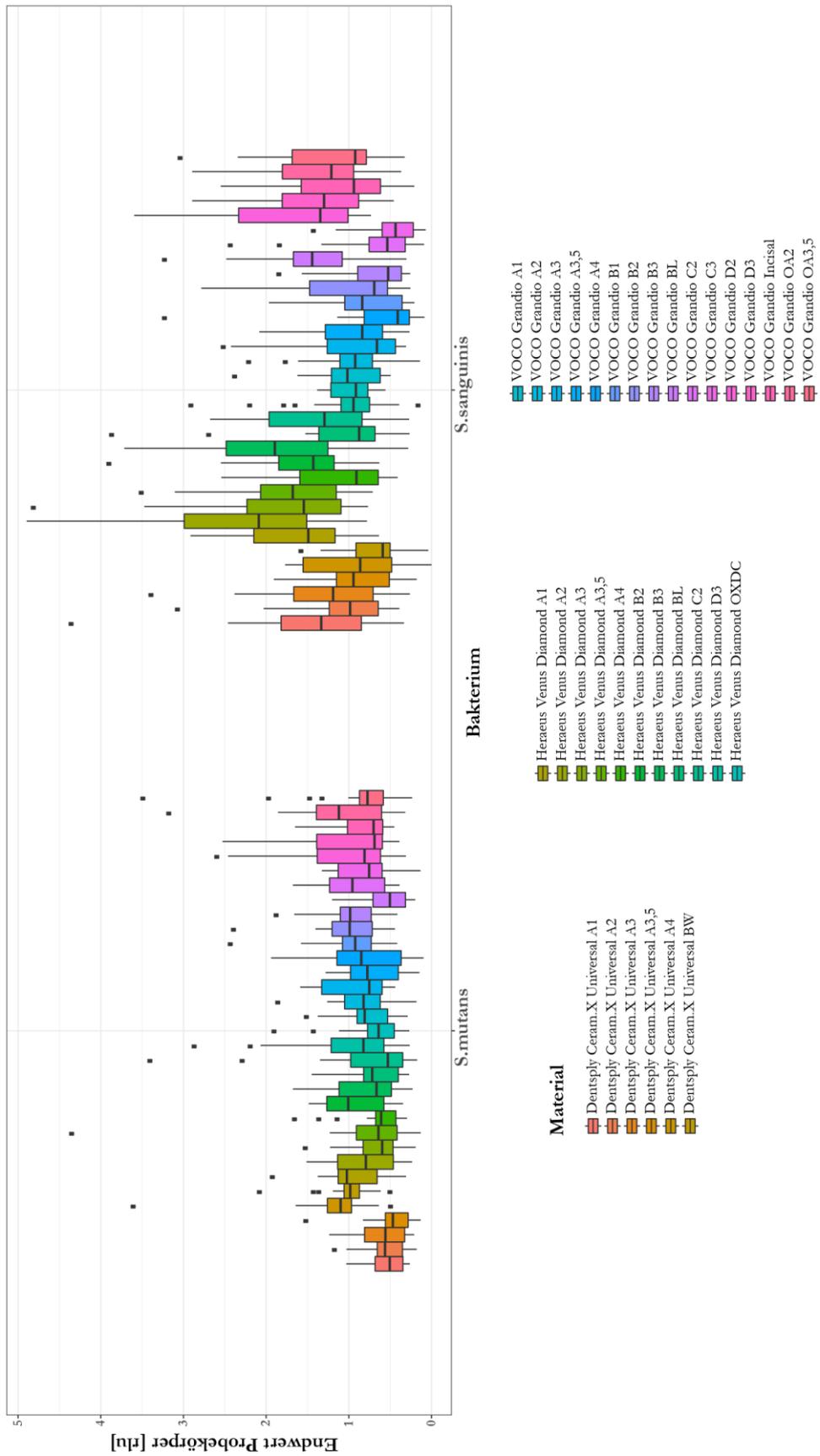


Abbildung 24: Endwerte der Lumineszenzmessung der 33 Testmaterialien [rlu] nach Bakterienspezies gruppiert (Maximum, Q3, Median, Q1, Minimum)

Die Abbildungen 25, 26 und 27 zeigen jeweils die Endwerte der Versuche mit *S. mutans* und *S. sanguinis* in *whisker-box-plots* der verschiedenen Grundmaterialien (Hersteller). Die Diagramme sind dabei in Anlehnung an die Originalfarben der entsprechenden Kompositmaterialien dargestellt, um die Farbunterschiede der Testmaterialien visuell darzustellen.

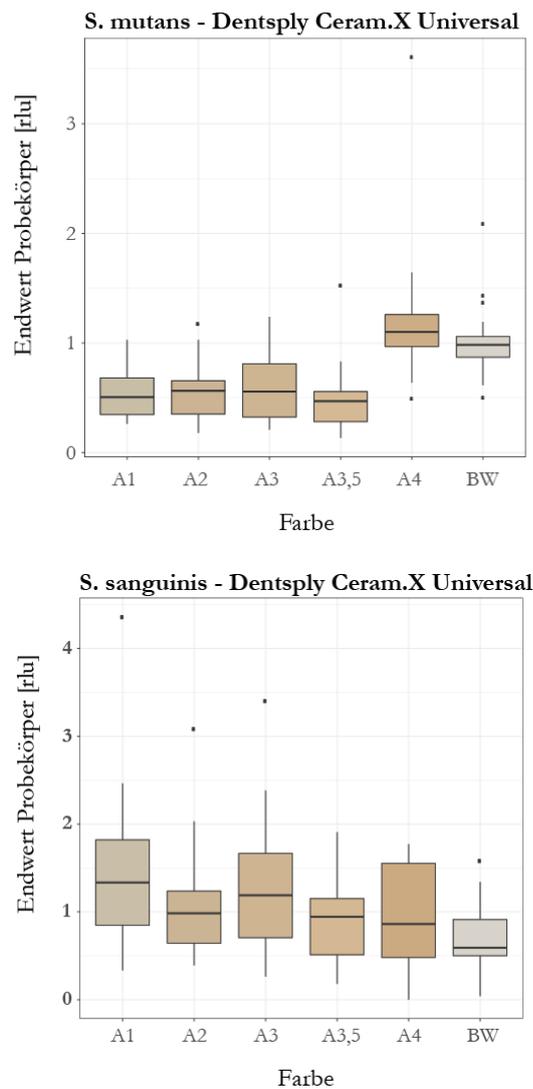


Abbildung 25: Endwerte der Versuche mit Dentsply Ceram.X Universal und *S. mutans* (oben) bzw. *S. sanguinis* (unten) [rlu], (Maximum, Q3, Median, Q1, Minimum)

Bei dem Grundmaterial Dentsply Ceram.X Universal ergaben sich signifikant erhöhte Anlagerungswerte von *S. mutans* auf den Farben A4 und BW im Vergleich zu den Testmaterialien anderer Farbgebung des gleichen Herstellers. In Versuchen mit *S. sanguinis* stellte sich ein umgekehrtes Verhältnis dar, hier lagen die Medianwerte der beiden o. g. Testmaterialien signifikant unterhalb der Werte der Materialien A1 und A3 des Herstellers (siehe auch Tabelle 2).

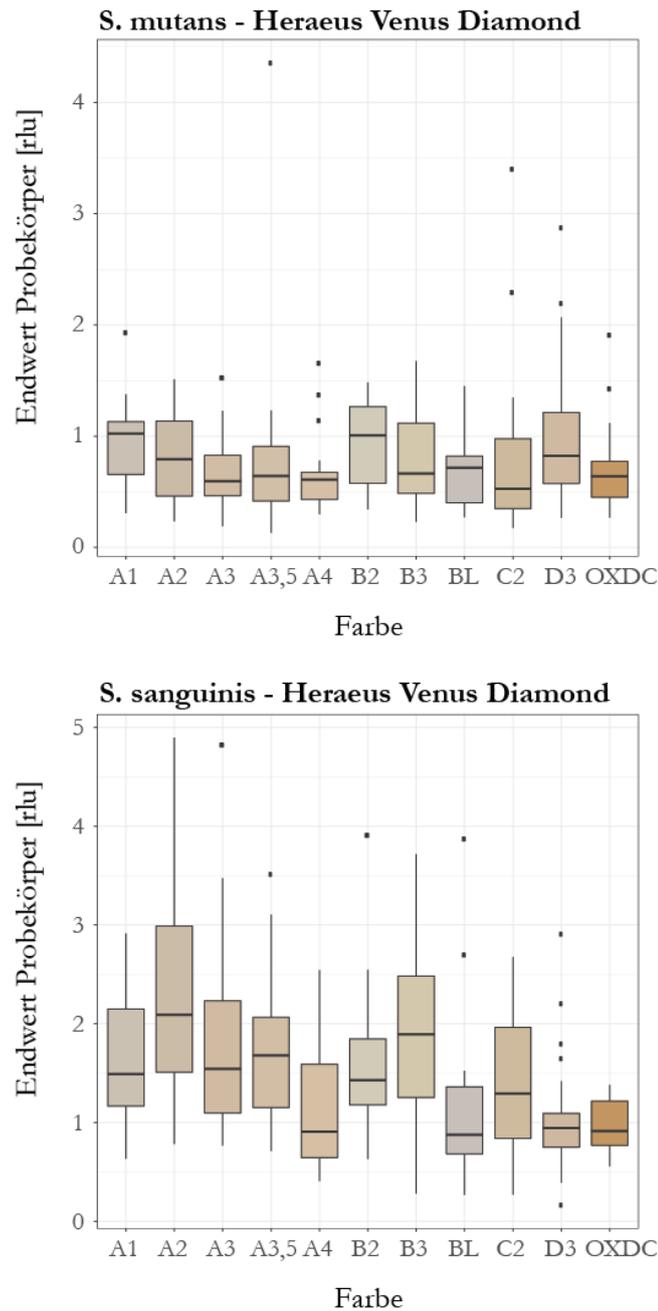


Abbildung 26: Endwerte der Versuche mit Heraeus Venus Diamond und *S. mutans* (oben) bzw. *S. sanguinis* (unten) [rlu], (Maximum, Q3, Median, Q1, Minimum)

Nach Inkubation des Grundmaterials Heraeus Venus Diamond mit *S. mutans* zeigten sich die höchsten medianen Anlagerungswerte auf den Farben A1 und B2, nach Inkubation mit *S. sanguinis* waren die höchsten Medianwerte bei den Farben A2 und B3 zu finden. Signifikante Unterschiede der Bakterienanlagerung zwischen den Testmaterialien zeigten sich nur bei Versuchen mit *S. sanguinis* (siehe auch Tabelle 3). Das besonders intensiv gefärbte Material OXDC – bzw. die Bakterienanlagerung darauf – zeigte keine deutlich höheren oder niedrigeren Werte gegenüber den anderen Materialien des Herstellers.

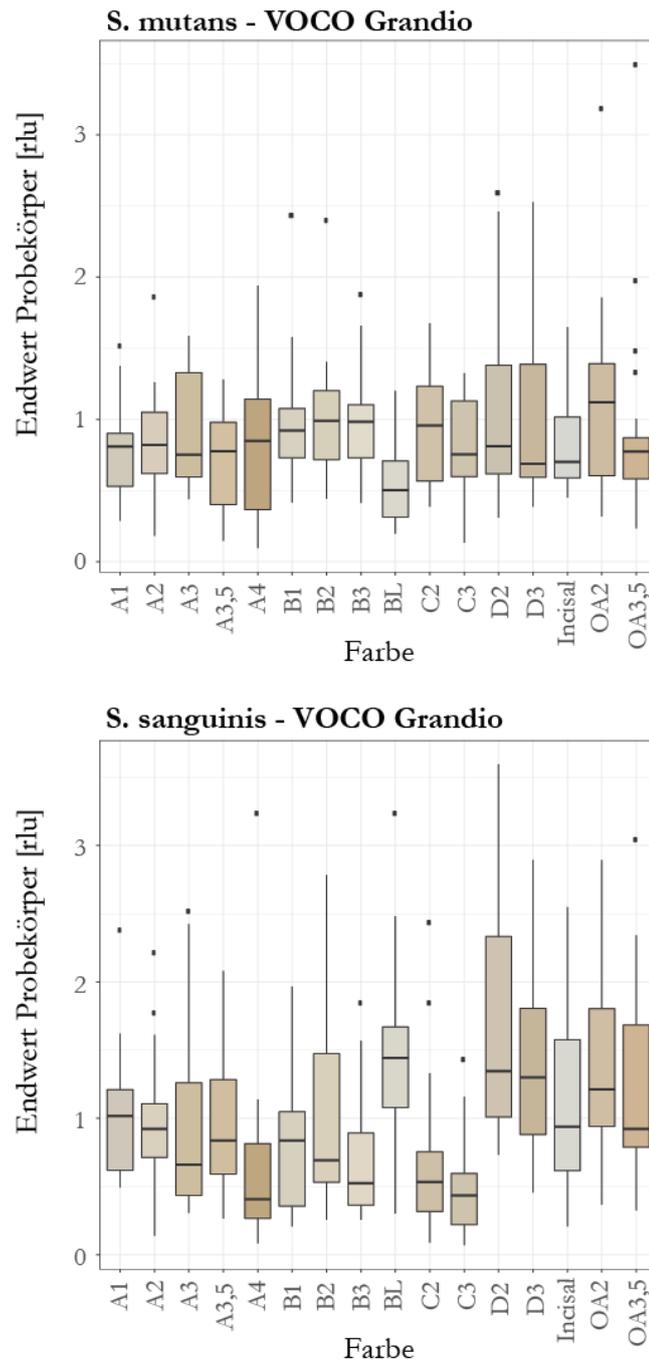


Abbildung 27: Endwerte der Versuche mit VOCO Grandio und *S. mutans* (oben) bzw. *S. sanguinis* (unten) [rlu], (Maximum, Q3, Median, Q1, Minimum)

Die tendenziell größte Menge adhärenter Keime von *S. mutans* auf dem Material VOCO Grandio war auf der Farbe OA2 zu finden, die tendenziell niedrigste Keimzahl fand sich auf der Farbe BL, jedoch waren keine signifikanten Unterschiede vorhanden. Versuche mit *S. sanguinis* ergaben für die Farben BL, D2, D3 und OA2 die quantitativ höchste, für die Farben A4 und C3 die geringste Bakterienanlagerung bei diesem Hersteller, wobei sich

signifikante Unterschiede zwischen den Testmaterialien bezüglich der initialen bakteriellen Adhäsion zeigten (siehe auch Tabelle 4).

Generell war keine eindeutige Tendenz der beiden Bakterienspezies zur vermehrten Anlagerung an einer bestimmten Farbe oder Farbgruppe zu erkennen, ein Zusammenhang der Adhäsion von Keimen mit einer Veränderung der Intensität der Farbgebung konnte ebenfalls nicht beobachtet werden.

Da die Varianzanalyse (ANOVA) – wie oben bereits beschrieben – signifikante Unterschiede zwischen den Grundmaterialien (Hersteller) als auch zwischen den Bakterienspezies zeigte, wurden die paarweisen Vergleiche der Farben in den Post-hoc-Analysen nur innerhalb der jeweiligen Grundmaterialien und Bakterienspezies durchgeführt. Die Tabellen 2, 3 und 4 zeigen, nach Herstellern aufgeteilt, die insgesamt 55 aller 380 paarweisen Vergleiche der Bakterienanlagerung auf Kompositmaterialien unterschiedlicher Farbgebung mit signifikanten Unterschieden.

Tabelle 2: Signifikante Unterschiede der Anlagerung von *S. mutans* und *S. sanguinis* auf Dentsply Ceram.X Universal mit entsprechenden p-Werten, die Hintergrundfarbe zeigt das Material mit signifikant mehr Bakterienanlagerung

Dentsply Ceram.X Universal				
	<i>S. sanguinis</i>		<i>S. mutans</i>	
	A4	BW	A4	BW
A1	0,002	< 0,001	< 0,001	0,0107
A2			< 0,001	0,0056
A3	0,0172	0,0032	0,0023	0,0377
A3,5			< 0,001	< 0,001

Bei Dentsply Ceram.X Universal zeigten sich signifikante Unterschiede der initialen Anlagerung beider Bakterienspezies. *Streptococcus sanguinis* akkumulierte signifikant stärker auf den Farben A1 und A3 gegenüber A4 und BW. *Streptococcus mutans* hingegen lagerte sich im Vergleich zu allen anderen Testmaterialien des Herstellers signifikant vermehrt auf den Farben A4 und BW an.

Tabelle 3: Signifikante Unterschiede der Anlagerung von *S. sanguinis* auf Heraeus Venus Diamond mit entsprechenden p-Werten, die Hintergrundfarbe zeigt das Material mit signifikant mehr Bakterienanlagerung

Heraeus Venus Diamond			
<i>S. sanguinis</i>			
	A2	A3	B3
A4	< 0,001		0,0178
C2	0,0153		
D3	< 0,001	0,0301	0,0064
BL	< 0,001	0,0289	0,0061
OXDC	< 0,001	0,0157	0,003

Bei Heraeus Venus Diamond zeigten sich signifikante Unterschiede der initialen Anlagerung nur bei Versuchen mit *S. sanguinis*. Eine signifikant erhöhte Bakterienakkumulation zeigte sich auf dem Material der Farbe A2 gegenüber den Farben A4, C2, D3, BL und OXDC. Bei den Farben A3 und B3 waren die Werte im Vergleich zu den Farben D3, BL und OXDC signifikant höher, B3 zeigte zusätzlich gegenüber der Farbe A4 signifikant höhere Anlagerungswerte.

Tabelle 4: Signifikante Unterschiede der Anlagerung von *S. sanguinis* auf VOCO Grandio mit entsprechenden p-Werten, die Hintergrundfarbe zeigt das Material mit signifikant mehr Bakterienanlagerung

VOCO Grandio								
<i>S. sanguinis</i>								
	A4	C3	D2	D3	BL	Incisal	OA2	OA3,5
A1	0,0279	< 0,001						
A2		0,012						
A3			0,0047					
A3,5		0,0225	0,0416					
A4			< 0,001	< 0,001	< 0,001		< 0,001	0,0026
B1			< 0,001	0,0233	0,0074		0,02	
B2		0,0376	0,025					
B3			< 0,001	0,004	0,0011		0,0034	
C2			< 0,001	< 0,001	< 0,001		< 0,001	0,0391
C3			< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,0026	< 0,001	< 0,001

Bei VOCO Grandio zeigten sich signifikante Unterschiede der initialen Anlagerung nur bei Versuchen mit *S. sanguinis*. Dabei zeigten die Farben A1, A2, A3,5 und B2 signifikant höhere Anlagerungswerte gegenüber C3, für A1 traf dies auch gegenüber A4 zu. Die Werte der Farbe D2 waren signifikant höher im Vergleich zu den Werten der Farben A3, A3,5, A4 B1, B2, B3, C2 und C3. Die Farben D3, BL und OA2 zeigten signifikant mehr Bakterienanlagerung als die Testmaterialien der Farben A4, B1, B3, C2 und C3. Des Weiteren ergaben sich signifikant höhere Anlagerungswerte der Farbe OA3,5 gegenüber A4, C2, und C3. Die oberflächliche Akkumulation von *S. sanguinis* auf VOCO Grandio Incisal war signifikant erhöht gegenüber dem Material der Farbgebung C3.

Der Vergleich der Farben B3 und D3 zeigte als einziger Vergleich Signifikanz bei zwei Grundmaterialien (Hersteller), VOCO Grandio und Heraeus Venus Diamond, unter Verwendung von *S. sanguinis*. Dabei war jedoch eine gegenläufige Tendenz bezüglich der Bakterienanlagerung zu beobachten, d. h. bei Heraeus Venus Diamond der Farbe B3 war die oberflächliche Akkumulation von *S. sanguinis* gegenüber dem Testmaterial der Farbe D3 signifikant erhöht, während bei VOCO Grandio die Farbe D3 signifikant höhere Anlagerungswerte gegenüber B3 aufwies. Der Vergleich der Anlagerungswerte der Farben A2 und A4 zeigte ebenfalls signifikante Unterschiede bei zwei Grundmaterialien (Herstellern), Dentsply Ceram.X Universal und Heraeus Venus Diamond, jedoch unter Verwendung verschiedener Bakterienspezies. Auch hier war die Tendenz der Bakterienanlagerung bei den beiden Grundmaterialien gegensätzlich.

Tabelle 5 zeigt die paarweisen Vergleiche der Grundmaterialien (Hersteller), dabei wurden die Grundmaterialien jeweils innerhalb einer Farbkodierung und eines Versuchsbakteriums miteinander verglichen.

Bei 9 von insgesamt 20 Vergleichen der Materialien VOCO Grandio und Heraeus Venus Diamond zeigten sich signifikante Unterschiede, jedoch waren diese allesamt bei Versuchen mit *S. sanguinis* (10 Vergleiche) zu finden. *Streptococcus sanguinis* zeigte in 80 % der Vergleiche mehr Adhäsion auf Heraeus Venus Diamond als auf VOCO Grandio, bei *S. mutans* war dies nur in 40 % der Vergleiche gegeben.

Die Vergleiche von VOCO Grandio mit Dentsply Ceram.X Universal sind bei zwei von insgesamt zehn Vergleichen signifikant, beide bei Versuchen unter Verwendung von *S. mutans* (5 Vergleiche). Vier der fünf Vergleiche dieser Materialien zeigten stärkere

Adhärenz von *S. mutans* auf VOCO Grandio, jedoch war einer der beiden signifikanten Vergleiche mit höherer Keimzahl auf Dentsply Ceram.X Universal verbunden. Die Versuche mit *S. sanguinis* zeigten im Median eine höhere Anzahl adhärenter Keime auf Dentsply Ceram.X Universal gegenüber VOCO Grandio.

Heraeus Venus Diamond und Dentsply Ceram.X Universal zeigen bei vier von zehn Vergleichen Signifikanz, wobei die signifikanten Unterschiede gleichermaßen bei beiden Bakterienarten zu finden sind. Ein weiterer Vergleich dieser Kombination von Materialien liegt mit $p = 0.0535$ an der Grenze zur Signifikanz. Die Vergleiche dieser Materialien zeigen im Medianwert zu 90 % eine höhere Keimzahl auf dem Material Heraeus Venus Diamond. Der einzige Vergleich mit höherer Keimzahl auf dem Material Dentsply Ceram.X Universal war einer der signifikanten Vergleiche unter Verwendung von *S. mutans*.

Tabelle 5: Vergleiche der Grundmaterialien (Hersteller) mit entsprechenden p-Werten (signifikante p-Werte sind dem Material mit den höheren Anlagerungswerten farblich entsprechend hinterlegt)

		<i>S. mutans</i>		<i>S. sanguinis</i>	
		Heraeus	VOCO	Heraeus	VOCO
A1	Dentsply	0,014	0,2421	0,4684	0,3892
	VOCO	0,6621		0,0132	
A2	Dentsply	0,1378	0,0775	< 0,001	0,9174
	VOCO	0,9946		< 0,001	
A3	Dentsply	0,9493	0,0375	0,0698	0,0835
	VOCO	0,1413		< 0,001	
A3,5	Dentsply	0,136	0,1928	< 0,001	0,9601
	VOCO	0,9983		0,001	
A4	Dentsply	0,0018	0,041	0,0535	0,5075
	VOCO	0,771		< 0,001	
B2	VOCO	0,6904		< 0,001	
B3	VOCO	0,0818		< 0,001	
BL	VOCO	0,2791		0,0285	
C2	VOCO	0,0603		< 0,001	
D3	VOCO	0,9796		0,0605	

Abbildung 28 stellt exemplarisch anhand der häufig verwendeten Zahnfarbe A3 die Unterschiede in der bakteriellen Adhäsion bei verschiedenen Grundmaterialien (Hersteller) mit gleicher Farbkodierung dar. Hierbei zeigte VOCO Grandio unter Verwendung von *S. mutans* mehr Bakterienanlagerung als die anderen Testmaterialien, während sich bei den Versuchen mit *S. sanguinis* ein umgekehrtes Verhältnis ergab. Die bakterielle Adhäsion war auf Heraeus Venus Diamond mit beiden Bakterienspezies stärker als auf Dentsply Ceram.X Universal.

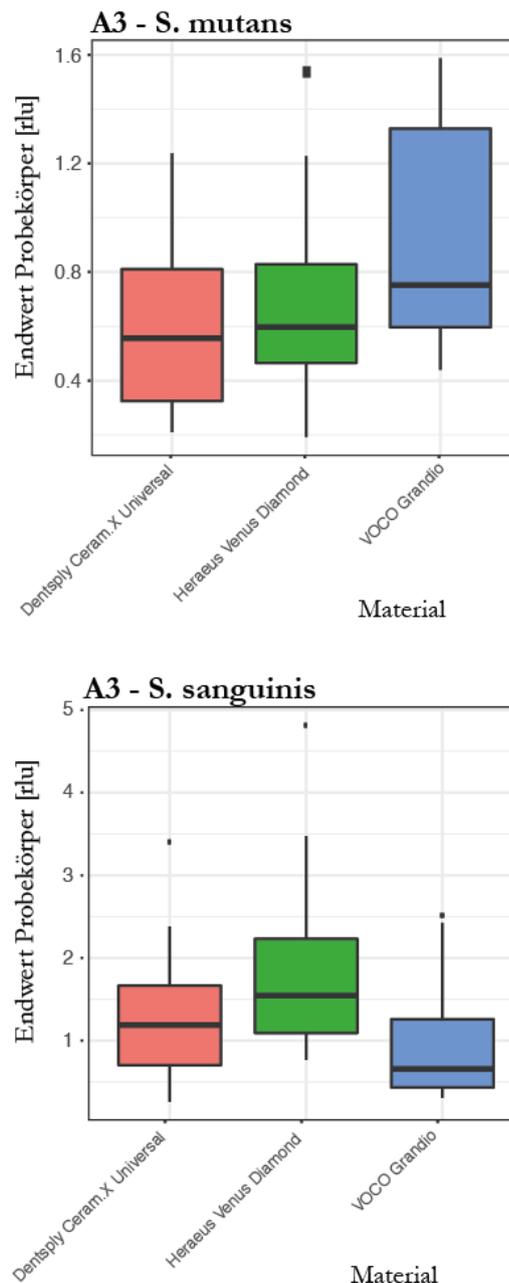


Abbildung 28: Unterschiede der bakteriellen Adhäsion bei verschiedenen Grundmaterialien (Hersteller) mit gleicher Farbkodierung, *S. mutans* (oben), *S. sanguinis* (unten), Endwerte der Lumineszenzmessung [rfu] (Maximum, Q3, Median, Q1, Minimum)

Die paarweisen Vergleiche der Adhärenz der Versuchsbakterien für die 33 Versuchsmaterialien ergab in 22 von 33 Fällen signifikante Unterschiede in der Anlagerung der beiden Bakterienspezies, wobei zwei weitere Vergleiche mit $p = 0,0559$ bzw. $p = 0,0551$ an der Grenze zur Signifikanz lagen. Die meisten nicht signifikanten Unterschiede in der Anlagerung der beiden Bakterienspezies (10 von 11) ergaben sich bei dem Grundmaterial VOCO Grandio (Farben: A1, A2, A3, A3,5, A4, B1, B2, OA2, OA3,5 und Incisal), ein weiterer Vergleich ohne signifikanten Unterschied zeigte sich bei Heraeus Venus Diamond D3, bei allen anderen Testmaterialien wiesen die beiden Bakterienspezies signifikante Unterschiede in der initialen Adhäsion auf. Bei 24 der 33 Testmaterialien konnte eine stärkere Anlagerung von *S. sanguinis* im Vergleich zu *S. mutans* festgestellt werden, neun Materialien begünstigten die Adhäsion von *S. mutans*, von denen sechs signifikante Unterschiede gegenüber der Anlagerung von *S. sanguinis* aufwiesen.

Abbildung 29 stellt exemplarisch anhand des Materials Heraeus Venus Diamond in der Farbe A3 die Unterschiede in der Adhäsion der beiden verwendeten Bakterienspezies dar. Bei diesem Material war der Unterschied im Anlagerungsverhalten der beiden Bakterienarten besonders gut zu erkennen. Eine Übersicht über alle Testmaterialien mit nebeneinander dargestellten Lumineszenzwerten der beiden Bakterienarten zeigt Abbildung 23. Daraus lässt sich erkennen, dass nicht bei allen Testmaterialien die Anlagerung von *S. sanguinis* im Vergleich zu *S. mutans* erhöht war, sondern teilweise ein umgekehrtes Verhältnis gegeben war.

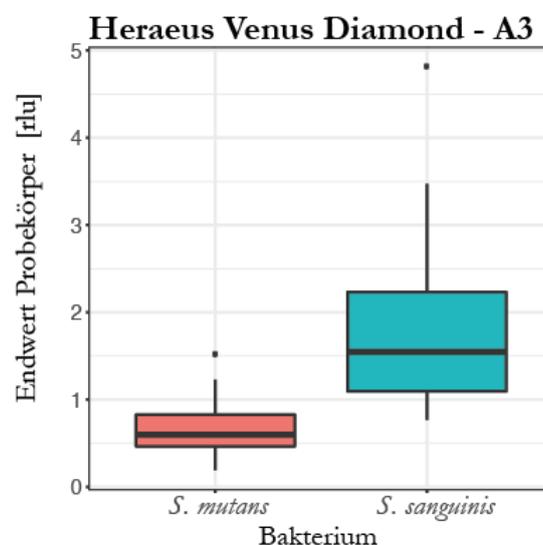


Abbildung 29: Unterschiedliche bakterielle Adhäsion auf Heraeus Venus Diamond A3, Endwerte als *whisker-box-plots* [rlu] (Maximum, Q3, Median, Q1, Minimum)

Drei der 55 paarweisen Vergleiche zur bakteriellen Adhäsion mit signifikanten Unterschieden (VOCO Grandio A1/A4, A1/C3 und A2/C3) unterschieden sich auch signifikant bezüglich der Rauheit und der freien Oberflächenenergie.

In Tabelle 6 sind die ermittelten Werte für den Rangkorrelationskoeffizient Kendall's Tau mit den dazu gehörigen p-Werten, sowie deren, nach der Bonferroni-Holm-Methode korrigierten Varianten dargestellt.

Bei dem Material Dentsply Ceram.X Universal konnte statistisch kein Zusammenhang zwischen der Rauheit oder der freien Oberflächenenergie und der initialen Anlagerung der beiden Bakterienarten belegt werden. Die freie Oberflächenenergie zeigte bei dem Material Heraeus Venus Diamond statistisch signifikanten Einfluss auf die Adhäsion von *S. mutans* ($p = 0,0012$), jedoch nicht auf die Anlagerung von *S. sanguinis* ($p = 0,5958$). Die Rauheit hatte bei diesem Material keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die Adhäsion der Keime. Beim Material VOCO Grandio ergab sich statistisch ein signifikanter Einfluss der Rauheit auf die Menge der adhärenenten Keime ($p = 0,002$) bei Inkubation mit *S. sanguinis*, bei Versuchen mit *S. mutans* war dieser Effekt nicht nachzuweisen ($p = 0,2535$). Ein Zusammenhang zwischen der freien Oberflächenenergie und der Adhärenz der beiden Bakterienspezies auf diesem Material konnte in dieser Arbeit statistisch nicht eindeutig belegt werden.

Tabelle 6: Rangkorrelationskoeffizient Kendall's Tau mit den dazugehörigen p-Werten

Material	Bakterium	Variablen	Kendall's tau	p-Wert	p B.-H.
Dentsply Ceram.X Universal	<i>S. mutans</i>	SFE – Endwert PK	-0.14	0.0343	0.0966
Dentsply Ceram.X Universal	<i>S. mutans</i>	Rauheit R_a – Endwert PK	-0.15	0.0193	0.0772
Dentsply Ceram.X Universal	<i>S. sanguinis</i>	SFE – Endwert PK	0.14	0.0322	0.0966
Dentsply Ceram.X Universal	<i>S. sanguinis</i>	Rauheit R_a – Endwert PK	0.06	0.3541	0.3541
Heraeus Venus Diamond	<i>S. mutans</i>	SFE – Endwert PK	0.17	< 0.001	0.0012
Heraeus Venus Diamond	<i>S. mutans</i>	Rauheit R_a – Endwert PK	-0.05	0.2939	0.5878
Heraeus Venus Diamond	<i>S. sanguinis</i>	SFE – Endwert PK	-0.02	0.5958	0.5958
Heraeus Venus Diamond	<i>S. sanguinis</i>	Rauheit R_a – Endwert PK	0.09	0.0468	0.1404

Material	Bakterium	Variablen	Kendall's tau	p-Wert	p B.-H.
VOCO Grandio	<i>S. mutans</i>	SFE – Endwert PK	-0.01	0.8938	0.8938
VOCO Grandio	<i>S. mutans</i>	Rauheit R_a – Endwert PK	0.06	0.0845	0.2535
VOCO Grandio	<i>S. sanguinis</i>	SFE – Endwert PK	-0.03	0.3731	0.7462
VOCO Grandio	<i>S. sanguinis</i>	Rauheit R_a – Endwert PK	0.13	< 0.001	0.002

5.6 Zusammenfassung der Ergebnisse

Insgesamt zeigten sich zwar einzelne signifikante Unterschiede im Vergleich spezifischer Testmaterialien, ein eindeutiger Trend zur vermehrten Anlagerung an eine Testfarbe bzw. ein Testmaterial konnte nicht nachgewiesen werden. Ein eindeutiger Einfluss von Rauheit oder freier Oberflächenenergie konnte bei den polierten Probekörpern ebenfalls nicht belegt werden.

In den paarweisen Vergleichen der 33 Testmaterialien hinsichtlich ihrer Oberflächenrauheit zeigten sich in 60 von 528 Vergleichen signifikante Unterschiede. In jedem dieser 60 Vergleiche war mindestens eines der drei Materialien VOCO Grandio A1, A2 oder B2 beteiligt. Die medianen Mittenrauwerte R_a lagen bei 32 der 33 Materialien unter $0,2 \mu\text{m}$. Die Oberflächenstrukturen aller mit dem Weitfeld-Konfokalmikroskop untersuchten Probekörper zeigten keine groben Rauheiten, Riefen, Rillen oder andere Oberflächenmodifikationen, welche eine bakterielle Adhäsion begünstigen könnten.

Die Bestimmung der freien Oberflächenenergie mittels Kontaktwinkelmessung ergab ebenfalls in 60 von 528 paarweisen Vergleichen der Materialien signifikante Unterschiede, wobei hier immer eines der beiden Materialien VOCO Grandio A1 bzw. A2 beteiligt war.

Die Varianzanalyse (ANOVA) der mikrobiologischen Versuche ergab eine signifikante Heterogenität. Die paarweisen Vergleiche der 33 Materialien (Farben) innerhalb der Grundmaterialien (Hersteller) und einer Bakterienart ergaben bei 55 von 380 Vergleichen signifikante Unterschiede in der bakteriellen Adhäsion. Paarweise Vergleiche der Grundmaterialien (Hersteller) mit gleicher Farbkodierung zeigten in 9 von 20 Fällen signifikante Unterschiede zwischen VOCO Grandio und Heraeus Venus Diamond, dabei waren alle signifikanten Resultate nach Inkubation mit *S. sanguinis*. Der Vergleich von Dentsply Ceram.X Universal mit VOCO Grandio ergab 2 signifikante Unterschiede bei 10

Vergleichen, beide unter Verwendung von *S. mutans*. Zwischen Dentsply Ceram.X und Heraeus Venus Diamond waren 4 von 10 Vergleichen signifikant, hier jedoch auf beide Bakterienarten gleichermaßen verteilt. Eine generelle Tendenz der Bakterienspezies zur Anlagerung an einem bestimmten Testmaterial konnte nicht beobachtet werden, jedoch schien in der vorliegenden Arbeit eine erhöhte Affinität von *S. sanguinis* zu Heraeus Venus Diamond im Vergleich zu den anderen beiden Materialien zu bestehen.

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Versuche mit *S. mutans* verglichen mit denen unter Verwendung von *S. sanguinis* ergab bei 22 der 33 untersuchten Materialien signifikante Unterschiede. Bei 24 Testmaterialien zeigten sich größere Mengen adhärenter Keime von *S. sanguinis* im Vergleich zu *S. mutans*, bei den 9 anderen war die Anlagerungstendenz umgekehrt.

Die Bestimmung des Rangkorrelationskoeffizienten Kendall's tau zeigte signifikante Zusammenhänge zwischen der freien Oberflächenenergie und der bakteriellen Adhäsion von *S. mutans* auf Heraeus Venus Diamond sowie zwischen der Rauheit und der bakteriellen Adhäsion von *S. sanguinis* auf VOCO Grandio. Alle weiteren Kombinationen zeigten keine Signifikanz.

6 Diskussion

6.1 Diskussion der Methodik

6.1.1 Studiendesign

Zielsetzung der vorliegenden Studie war die Darstellung von gegebenenfalls vorhandenen Unterschieden in der initialen bakteriellen Besiedlung verschiedener Kompositmaterialien. Die Testmaterialien unterschieden sich in ihrer Rezeptur hinsichtlich der Beimengungen zur Farbgebung. Die Hypothese, dass diese minimalen Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung Einfluss auf die initiale Bakterienadhäsion haben, sollte überprüft werden. Da bereits die Einflüsse von Rauheit, Morphologie und freier Oberflächenenergie des Substrats durch verschiedene Studien eindeutig beschrieben wurden (An und Friedman 1998; Bürgers et al. 2010c; Nyvad und Fejerskov 1987), stellten Messungen der genannten Parameter einen Teil der vorliegenden Arbeit dar, um dadurch bedingte Änderungen der bakteriellen Adhäsion nachvollziehen und beurteilen zu können. Die Versuche erfolgten *in vitro*, um so alle potentiellen Einflussfaktoren möglichst präzise definieren zu können und eine Reproduzierbarkeit der Studienergebnisse zu gewährleisten. Allerdings werden so reale oralbiologische Gegebenheiten nur bedingt widerspiegelt (Park et al. 2012; Wimpenny 1997). Patientenindividuell unterschiedliche Faktoren, wie beispielsweise Speichelzusammensetzung oder Nährstoffzufuhr, welche die Biofilmbildung maßgeblich beeinflussen, werden durch definierte In-vitro-Bedingungen weitgehend eliminiert und erhöhen somit die Aussagekraft von potentiellen Unterschieden in der Biofilmanlagerung (Coenye und Nelis 2010). So gewonnene In-vitro-Resultate können auf reale Bedingungen übertragen werden und durch ggf. folgende In-vivo-Untersuchungen verifiziert werden (Bürgers et al. 2010c).

Um mögliche Auswirkungen von Farbzusätzen bei dentalen Kompositen auf die initiale bakterielle Adhäsion zu bestimmen, wurden für diese Studie von drei Herstellern insgesamt 33 verschiedenfarbige handelsübliche Komposit-Materialien verwendet. So konnten die Einflüsse der Grundmischungen (der drei Hersteller) *per se* und die Auswirkungen der Farben im Detail evaluiert werden.

Die Versuchsabläufe und verwendeten Techniken wurden nach bereits in anderen Studien etablierten Verfahren ausgewählt, um Resultate vorhersagbarer Qualität zu generieren (Bürgers et al. 2010c; Hahnel et al. 2010).

6.1.2 Probekörper

Die für diese Studie verwendeten Probekörper wurden aus den handelsüblichen Füllungskunststoffen Dentsply Ceram.X Universal, Heraeus Venus Diamond und VOCO Grandio hergestellt, wodurch ein direkter Vergleich verschiedener Basismaterialien miteinander möglich war und zusätzlich vorhandene Abweichungen in der bakteriellen Adhäsion auf den farblich verschiedenen Kompositen evaluiert werden sollten. Eine korrekte Verarbeitung bei der Polymerisation der Komposite entsprechend den Herstellerangaben reduziert den Einfluss nicht reagierter Kompositbestandteile (Restmonomere) auf die Versuchsdurchführung signifikant (Schedle et al. 1998; Schmalz 1998).

Die Verwendung und Herstellung verschieden großer Probekörper war den verschiedenen Untersuchungen geschuldet. Für die Kontaktwinkelmessung wurden Probekörper mit 10 mm Durchmesser benötigt, um das Auftropfen der zwei Testflüssigkeiten aus den parallel angeordneten Düsen des Messgerätes zu ermöglichen. Probekörper dieses Durchmessers wären jedoch für die Verwendung bei den mikrobiologischen Versuchen in 48-Well-Platten überdimensioniert gewesen, sodass hierfür Probekörper mit 6 mm Durchmesser eingesetzt wurden. Auf einen Bezug zu der Größe der Oberfläche intraoraler Füllungen wurde auf Grund der hohen Variabilität in der Ausdehnung dieser bewusst verzichtet, da in dieser Studie die Auswirkungen der Farbgebung dentaler Komposite auf die initiale bakterielle Adhäsion untersucht werden sollten und deshalb eine für die Versuche geeignete konstante Größe der Probekörperoberfläche gewählt wurde.

Ein weiterer Unterschied zwischen intraoralen Füllungen und den Probekörpern liegt in der Qualität der Oberfläche. Direkte dentale Restaurationen werden intraoral ausgehärtet, ausgearbeitet und poliert, die dabei erzielten Ergebnisse sind von dem verwendeten Poliersystem, der Morphologie und Lage der Füllung, dem verwendeten Material sowie vom Behandler abhängig (Bashetty und Joshi 2010; Chour et al. 2016; Daud et al. 2018; Ereifej et al. 2013; Özgünlaltay et al. 2003; Yap et al. 1998).

Die Verwendung einer voll-automatischen Schleif- und Poliermaschine mit konstanten Bearbeitungszeiten und konstantem Anpressdruck sollte gleichmäßige Probekörperoberflächen gewährleisten. Bei einer manuellen Bearbeitung wäre eine gewisse Varianz in der Oberflächengüte nicht auszuschließen gewesen (Jung et al. 2005; Jung et al. 2007). Durch die unterschiedlichen Größen der Probekörper war ein Unterschied im Anpressdruck zu berücksichtigen, welcher durch die Menge der auf die Probekörperhalter aufgetragenen Probekörper nahezu kompensiert wurde. Pro Halter wurden zwölf Probekörper kleinen

Durchmessers aufgebracht, woraus eine Fläche von ca. 3,39 cm² resultierte, entsprechend ergab die Verwendung von fünf großen Probekörpern pro Halter eine Oberfläche von ca. 3,92 cm².

6.1.3 Weitfeld-Konfokalmikroskopie

Um die Rauheit und die Morphologie von Substraten zu messen, stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Zum einen kann die Oberfläche abgetastet werden, wie z.B. bei der 2D-Profilometrie, zum anderen ist eine berührungslose optische Erfassung der Oberfläche durch verschiedene Verfahren möglich (Duparré et al. 2002). Die klassische 2D-Profilometrie (Perthometrie) tastet das Profil einer Oberfläche entlang einer definierten Strecke ab, also nicht die gesamte Oberfläche an sich. Der daraus errechenbare arithmetische Mittenrauwert R_a wird in der Literatur als weitverbreiteter Parameter für die Darstellung der Rauheit angegeben (Kocher et al. 2002). Jedoch ist eine solche zweidimensionale Darstellung und Beurteilung der Morphologie einer Oberfläche nur eingeschränkt geeignet, um den Einfluss von physikalischen Oberflächenparametern auf die Biofilmbildung zu überprüfen. Bildgebende dreidimensionale Verfahren bieten im Kontext biologischer Reaktionen deutliche Vorteile (Leach 2011). Das in dieser Studie verwendete computergesteuerte Weitfeld-Konfokalmikroskop erzeugt dreidimensionale Bilder der betrachteten Oberfläche. Dabei entsteht das Bild durch Aufnahmen mehrerer Bildebenen, in denen jeweils nur die fokussierten Bereiche erfasst werden. Der so generierte Datensatz ermöglicht die dreidimensionale Darstellung der Oberfläche und lässt eine Berechnung aller 2D- und 3D-Oberflächenparameter zu (Borlinghaus 2015; Haus 2014; Lange et al. 1993). Die Literaturrecherche zeigte vergleichbare Messgenauigkeit von Perthometrie und optischer 3D-Profilometrie, wobei den optischen Verfahren einfachere Anwendung und geringerer Zeitaufwand zugesprochen wird und alle Oberflächenparameter zeitgleich erfasst werden (Gyurkovics et al. 2017; Heintze et al. 2006; Silikas et al. 2005).

Die Beurteilung der Morphologie erfolgte visuell anhand der dreidimensionalen Darstellungen der Probekörperoberflächen sowie der Probekörper selbst und diente dem Ausschluss von Gestaltabweichungen, welche Prädilektionsstellen für die Biofilmentstehung darstellen könnten (Perera-Costa et al. 2014).

Zusammenfassend betrachtet scheint die Weitfeld-Konfokalmikroskopie für das verwendete Studiendesign gut geeignet, da die Rauheit und die Oberflächenmorphologie zeit- und anwenderfreundlich in einer Messung erfasst werden, ohne dabei qualitativ anderen

Messmethoden, wie der Perthometrie, unterlegen zu sein. Für die Evaluation signifikanter Unterschiede bezüglich der Rauheit wäre alternativ zu dem linearen Mittenrauwert R_a die Verwendung eines entsprechenden dreidimensionalen Parameters, die mittlere arithmetische Höhe S_a , denkbar gewesen (Austin et al. 2016).

6.1.4 Kontaktwinkelmessung

Zur Ermittlung der freien Oberflächenenergie stellt die Kontaktwinkelmessung eine häufig angewandte Methode dar (Busscher et al. 1984a). Dabei wird aus den Kontaktwinkeln von unterschiedlichen oberflächlich applizierten Flüssigkeiten die freie Oberflächenenergie des Substrats ermittelt, jedoch wird diese Methodik in der Literatur kritisch diskutiert (Good 1992). Heteromorphe Zustände des gleichen Materials oder die Position der applizierten Messflüssigkeiten auf der Oberfläche werden als mögliche beeinflussende Faktoren beschrieben, die zu signifikanten Divergenzen in den Messergebnissen führen können (Chibowski und Perea-Carpio 2002). Verunreinigungen der Oberfläche (schon feinste Staubkörner reichen hierbei aus) stellen eine weitere mögliche Fehlerquelle bei den Messungen dar (Yuan und Lee 2013). Eine Hysterese der Kontaktwinkel durch die Kinetik der Benetzung kann ebenfalls zu unterschiedlichen Ergebnissen führen (Bender 2005; Korhonen et al. 2013; Lam et al. 2002). Rauheit der Oberfläche oder chemische Heterogenität des Substrats können die Hysterese beeinflussen (Kwok und Neumann 1999). Durch eine Standardisierung der Probekörperherstellung konnten in dieser Studie Einflüsse von Rauheit und Inhomogenität des Substrats auf die Kontaktwinkelmessung minimiert werden. Einige Messmethoden verwenden Standbilder liegender Tropfen, welche nach einer bestimmten Zeit nach Applikation der Flüssigkeiten aufgenommen wurden, wodurch die Hysterese als mögliche Fehlerquelle minimiert werden kann (Kwok und Neumann 1999; Yuan und Lee 2013). Bei der in dieser Studie verwendeten Methode werden mehrere Kontaktwinkelmessungen innerhalb eines bestimmten Zeitintervalls anhand eines Kameralivebildes computergestützt erstellt. Dies ermöglicht die Erfassung der Hysterese während des Zeitintervalls und die Berechnung eines Mittelwertes der Kontaktwinkel sowie der SFE (Girault et al. 1984; Lin et al. 1996). Wann die Kontaktwinkelmessung erfolgen sollte, ob direkt nach Applikation des Tropfens oder erst nach hysteretischer Veränderung, ist in der Literatur umstritten (Kwok und Neumann 1999; Marmur 1996; Yuan und Lee 2013). In die Berechnung der SFE fließen viele Parameter aus rein theoretischen Berechnungen ein, jedoch scheint die Methodik näherungsweise tatsächlich die korrekte SFE widerzuspiegeln (Andrade et al. 1985; Good 1992; Yuan und Lee 2013). Im Vergleich zu

anderen Untersuchungsmethoden stellt die hier verwendete Methode der Kontaktwinkelmessung eine anwenderfreundliche, etablierte und kostengünstige Variante dar (Andrade et al. 1985; Uyama et al. 1991; Yuan und Lee 2013).

6.1.5 Mikrobiologische Versuche

In der vorliegenden Studie wurden die Probekörper zunächst eine Stunde mit steril filtriertem Kunstspeichel inkubiert, um so ein *acquired pellicle* als Basis für die Biofilmentstehung zu erzeugen (Carlen et al. 1996a; Cheaib et al. 2015). Dabei erfolgte die Inkubation in einem Tischorbitalschüttler, wodurch intraorale Scherkräfte und Körpertemperatur simuliert wurden (Hahnel et al. 2008b). Die Imitation intraoraler Verhältnisse diente bei den Versuchen einer Näherung an In-vivo-Verhältnisse bei optimalem Ausschluss unvorhersagbarer Faktoren zur Gewährleistung vergleichbarer Ergebnisse, welche Rückschlüsse auf In-vivo-Situationen zulassen (Bürgers et al. 2010c).

Der Pionierkeim *Streptococcus sanguinis* besitzt die Fähigkeit, direkt an das *acquired pellicle* zu binden und die Biofilmbildung zu initiieren (Hellwig et al. 2013; Hojo et al. 2009; Marsh et al. 2009). Diese Eigenschaften zeichnen den Keim als geeignetes Testbakterium für die in dieser Arbeit gewählte Versuchsanordnung der initialen bakteriellen Adhäsion aus. Jedoch ist *S. sanguinis* nur schwach kariogen (Lehmann 1991), weshalb *Streptococcus mutans* als weiteres Bakterium in die Untersuchungen mit einbezogen wurde. *S. mutans* stellt den Leitkeim der dentalen Karies dar (Ajdić et al. 2002; Yoshida et al. 2005). Deswegen lassen die entsprechenden Ergebnisse spezifische Interpretationen hinsichtlich der Auswirkungen verschiedenfarbiger Kompositmaterialien auf die Entstehung von bzw. der Prophylaxe vor Sekundärkaries zu. Des Weiteren ermöglicht der Einsatz von zwei Bakterienspezies in zwei Versuchsreihen bessere Aussagen zu möglichen Auswirkungen bei komplexen In-vivo-Bedingungen (Wassmann et al. 2017). Interbakterielle Wechselwirkungen, wie sie *in vivo* zu finden sind und einen entscheidenden Bestandteil der Biofilmbildung darstellen (Stoodley et al. 2002), können auf Grund der Verwendung von Monokulturen hier jedoch nicht wiedergegeben werden. Studien mit ähnlichem Versuchsaufbau zeigen, dass die Verwendung von Monokulturen dennoch aussagekräftige Ergebnisse liefert (Bürgers et al. 2009a). Eine direkte Übertragung der vorliegenden Ergebnisse auf die klinische Situation darf allerdings nicht vorgenommen werden.

Zur Quantifizierung der adhärennten Bakterien wurden ATP-Biolumineszenz-Assays verwendet, welche auf der Umwandlung von Luciferin in Oxiluciferin und der Messung von dabei entstehendem Licht beruhen. Die für diese Reaktion benötigte Energie liefert der

Abbau von intrazellulärem ATP aus den adhärenen Bakterien. Die Menge intrazellulären ATPs korreliert hierbei mit der Bakterienanzahl, da sie als konstant gilt (Crouch et al. 1993). Für jeden Versuch wurden neue Bakterienkulturen angesetzt, um so Bakterien in möglichst gleicher Wachstumsphase und Zellaktivität zu verwenden. Da jedoch Unterschiede diesbezüglich nicht komplett ausgeschlossen werden konnten, wurde eine Gleichschaltung der Versuche durch Verwendung von Glasprobekörpern, deren Eigenschaften als konstant angesehen werden können, durchgeführt. Avitale, stoffwechsellinaktive Bakterien werden auf Grund fehlenden ATPs von dem verwendeten ATP-Biolumineszenz-Assay nicht erfasst, wodurch dieses Assay die tatsächliche Zellvitalität sehr genau abbilden kann (Petty et al. 1995; Riss et al. 2016). Dies kann als praktischer Vorteil gegenüber bildgebenden Verfahren, wie beispielsweise der Fluoreszenzmikroskopie, angesehen werden, welche wiederum avitale Zellen auch erfassen kann und damit zusätzliche Informationen lieferte (Buergers et al. 2008; Crouch et al. 1993; Dexter et al. 2003). Alternativen zu dem ATP-Biolumineszenz-Assay wären das Resazurin- oder das Tetrazolium-Assay gewesen, bei denen das Reagenz an sich durch den zellulären Stoffwechsel umgewandelt und das resultierende Produkt fluoreszenzanalytisch erfasst wird (Berridge et al. 2005; Bürgers et al. 2009b; O'Brien et al. 2000). Für die Umwandlung der Reagenzien wird eine zusätzliche Inkubationszeit benötigt, ermöglicht jedoch auch die Beobachtung der Proliferation von Zellkulturen (Czekanska 2011). Beim ATP-Biolumineszenz-Assay werden die adhärenen Bakterien nach Ende der Inkubationszeit mit der Bakteriensuspension lysiert, wodurch weitere Zellproliferation während einer zusätzlichen Inkubationszeit ausgeschlossen werden kann. Des Weiteren zeichnet sich das ATP-Biolumineszenz-Assay im Vergleich zu den beiden anderen Methoden durch eine höhere Sensitivität, bessere Reproduzierbarkeit der Ergebnisse und einfachere sowie zeiteffizientere Handhabung aus, ist jedoch kostenintensiver (Riss et al. 2016).

6.2 Diskussion der Ergebnisse

6.2.1 Rauheit und Morphologie

Die Medianwerte der Rauheitsuntersuchungen zeigten allgemein einen R_a von $< 0,2 \mu\text{m}$ mit Ausnahme des Materials VOCO Grandio A2, dessen R_a -Medianwert bei $0,47 \mu\text{m}$ lag. Untersuchungen an Titanoberflächen zeigten, dass unterhalb eines Mittenrauwertes von $0,2 \mu\text{m}$ die Rauheit der Oberfläche keinen weiteren Einfluss auf die Adhäsion von Mikroorganismen hat (Bollen et al. 1997; Teughels et al. 2006). Dies kann jedoch nicht direkt

auf die Kompositmaterialien übertragen werden, hier zeigt die Literaturrecherche keine eindeutigen Grenzwerte (Al-Marzok und Al-Azzawi 2009; Aykent et al. 2010; Buergers et al. 2007; Lassila et al. 2009). Buergers *et al.* konnten zeigen, dass R_a -Werte von $0,04 - 0,11 \mu\text{m}$ keinen Einfluss auf die Bakterienanlagerung auf Kompositoberflächen haben (Buergers et al. 2007; Buergers et al. 2009). Bei 29 der 33 Testmaterialien dieser Studie lagen die medianen Mittenrauwerte unter $0,11 \mu\text{m}$, also im Bereich der von Buergers *et al.* gemessenen Werte. Somit scheint auch in dieser Studie ein Einfluss der Rauheit auf die Bakterienanlagerung weitestgehend ausgeschlossen. Ein Zusammenhang zwischen der Oberflächenrauheit und der bakteriellen Adhäsion wird in der Literatur jedoch auch für Komposite beschrieben (Ono et al. 2007; Sainan et al. 2016). Anhand von Titanoberflächen konnten Buergers *et al.* den Einfluss der Oberflächenrauheit auf die Biofilmbildung *in vivo* darstellen, dabei wies eine signifikant rauere säuregeätzte Titanoberfläche ($R_a = 0,95 \mu\text{m}$) im Vergleich zu einer rein maschinell bearbeiteten Titanoberfläche ($R_a = 0,15 \mu\text{m}$) deutlich erhöhte Biofilmmak-kumulation auf (Buergers et al. 2010c). In dieser Studie zeigt sich nur beim Grundmaterial VOCO Grandio in Verbindung mit *S. sanguinis* eine signifikante Korrelation zwischen der Oberflächenrauheit und der bakteriellen Adhäsion, unter Verwendung von *S. mutans* war dieser Zusammenhang nicht gegeben. Das zeigt, dass die verwendete Poliermethode – bis auf Grandio – geeignet war, die Rauheit als Einflussfaktor zu eliminieren. Bei den paarweisen Vergleichen der 33 Materialien zeigten 60 der 528 Vergleiche signifikante Unterschiede, wobei jeweils eins der drei Materialien VOCO Grandio A1, A2 oder B2 Bestandteil der 60 signifikanten Vergleiche war. Das Komposit der Farbgebung B2 war jedoch nur an vier signifikanten Vergleichen beteiligt. Daraus ergibt sich, dass ca. 90 % der Vergleiche keine signifikanten Unterschiede aufzeigen, ein Einfluss der Rauheit lässt sich somit zwar nicht ausschließen, jedoch finden sich nur drei der 60 signifikanten Vergleichspaare unter den signifikanten Vergleichen zur bakteriellen Adhäsion wieder. Rückschließend können also signifikante Unterschiede zumindest innerhalb der Grundmaterialien Dentsply Ceram.X Universal und Heraeus Venus Diamond ausgeschlossen werden, da alle signifikanten Vergleiche sich auf die o. g. Materialien beziehen. Für das Grundmaterial VOCO Grandio musste eine vorsichtige Interpretation der Ergebnisse unter Berücksichtigung der entsprechenden Rauheitswerte erfolgen.

Neben Oberflächenrauheit und freier Oberflächenenergie werden auch makroskopische Gegebenheiten, wie Kratzer, kleine Mulden o. ä., als Prädilektionsstellen für Biofilmmak-kumulation beschrieben (Whitehead und Verran 2006). Die visuelle Überprüfung der Probekörperoberflächen mittels Mikroskop konnte zeigen, dass solche Fehlstellen in dieser

Studie durch die standardisierte Oberflächenbearbeitung der Probekörper erfolgreich vermieden werden konnten.

6.2.2 Freie Oberflächenenergie

Die Varianzanalyse der freien Oberflächenenergie ergab signifikante Unterschiede zwischen den 33 Materialien, wobei auch hier lediglich 60 von 528 paarweisen Vergleichen in der Post-hoc-Analyse Signifikanz zeigten, bei denen jeweils eines der beiden Materialien VOCO Grandio A1 oder A2 involviert war, sodass auch hier rückschließend signifikante Unterschiede innerhalb der Grundmaterialien Dentsply Ceram.X Universal und Heraeus Venus Diamond ausgeschlossen werden können. Da die gleichen Materialien an den signifikanten Unterschieden bezüglich der Rauheit sowie der freien Oberflächenenergie beteiligt waren, lässt dies auf einen Zusammenhang der beiden Parameter schließen, wie es von Busscher et al. beschrieben wurde (Busscher et al. 1984b). Die Medianwerte dieser Materialien lagen mit 52,03 mN/m (VOCO Grandio A1) und 45,83 mN/m (VOCO Grandio A2) unter denen der anderen 31 Materialien, deren Medianwerte sich zwischen 56,79 mN/m (VOCO Grandio A3,5) und 64,81 mN/m (Heraeus Venus Diamond B2) anordneten. Die Messwerte der Probekörper dieser beiden Materialien zeigten eine Streuung, sodass deren Maxima im Bereich der Messwerte der anderen Materialien lagen. Die Divergenz dieser beiden Materialien zu den anderen ist zwar signifikant, jedoch können die Unterschiede bei den Kompositmaterialien in dieser Studie vergleichend zu denen anderer Werkstoffgruppen eher als gering eingestuft werden (Krüss 2017). Die Bestimmung der freien Oberflächenenergie erfolgte vor Durchführung der mikrobiologischen Versuche, wodurch Auswirkungen des *acquired pellicle* (in der vorliegenden Arbeit aus Kunstspeichel erzeugt), in Form von Reduktion der SFE und damit einer Zunahme der Hydrophobizität (Sipahi et al. 2001), nicht erfasst wurden.

Drei von 60 signifikanten Vergleichen und somit nur 0,57% der gesamten paarweisen Vergleiche bezüglich der freien Oberflächenenergie finden sich unter den signifikanten Vergleichen der bakteriellen Adhäsion wieder, alle unter Verwendung von *S. sanguinis*. Eine signifikante Korrelation zwischen SFE und bakterieller Adhäsion konnte statistisch für das Grundmaterial Heraeus Venus Diamond belegt werden, jedoch in Verbindung mit *S. mutans*. Ein Einfluss der freien Oberflächenenergie auf die oberflächliche Bakterienakkumulation *per se* kann also nicht ausgeschlossen werden, scheint in dieser Studie jedoch nicht relevant zu sein.

6.2.3 Bakterielle Adhäsion

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten teilweise signifikante Unterschiede der bakteriellen Adhäsion in Abhängigkeit sowohl von der verwendeten Bakterienspezies, dem Grundmaterial (Hersteller) an sich als auch von der Farbgebung der Testmaterialien. Jedoch gab es keine eindeutige Tendenz der vermehrten Bakterienakkumulation bei einem bestimmten Hersteller oder durch eine der beiden verwendeten Bakterienspezies. Eine Korrelation zwischen Kompositfarbe und Bakterienanlagerung lag ebenfalls nicht vor.

Die Biofilmbildung wird in der Literatur hinlänglich beschrieben, dabei wird Pionierkeimen wie *S. sanguinis* eine stärkere Affinität zur direkten Bindung an das *acquired pellicle* gegenüber Spätbesiedlern zugesprochen (Hellwig et al. 2013; Hojo et al. 2009; Marsh et al. 2009). Für die Verwendung von Monokulturen in In-vitro-Versuchen konnte jedoch auch gezeigt werden, dass das Vorhandensein eines *acquired pellicle* bzw. bereits adhärenter Keime keine zwingende Voraussetzung für eine Adhäsion von Spätbesiedlern wie *S. mutans* darstellt (Busscher et al. 1992; Hahnel et al. 2008a). Diese Erkenntnisse zeigten sich auch in der vorliegenden Arbeit durch die Divergenzen im Adhäsionsverhalten der beiden verwendeten Bakterienspezies.

Einen Einfluss der Materialzusammensetzung auf die initiale bakterielle Adhäsion stellten Bürgers *et al.* anhand von verschiedenen Materialien zur Herstellung von Provisorien dar (Bürgers et al. 2007). Andere Studien untersuchten diese Zusammenhänge an Füllungskompositen, wobei sich auch hier signifikante Unterschiede zeigten (Brambilla et al. 2005; Steinberg und Eyal 2002). Durch In-vitro-Untersuchungen konnten Hahnel *et al.* den Einfluss verschiedener Monomierzusammensetzungen von Kompositen auf die bakterielle Adhäsion von *S. mutans* belegen (Hahnel et al. 2008c). In der vorliegenden Untersuchung zeigten sich ebenfalls Unterschiede der drei Grundmaterialien (Hersteller) bezüglich der Bakterienanlagerung. Da die genaue Zusammensetzung der Komposite nicht bekannt ist, können die für die Divergenzen in der bakteriellen Adhäsion verantwortlichen Faktoren jedoch leider nicht bestimmt werden.

Anhand von In-vitro-Untersuchungen wurde die Wirkung von antimikrobiellen Zusätzen in Kompositmaterialien untersucht, beispielsweise zeigten Silber- und Zinkoxidzusätze in Form von Nanopartikeln bakterizide und die Bakterienanlagerung hemmende Wirkung (Bürgers et al. 2009b; Han et al. 2015; Kasraei et al. 2014). In der Literatur wird im Zusammenhang mit dentalen Kompositmaterialien häufig die antibakterielle Wirkung von TiO₂-Nanopartikeln als Zusatz in Kompositmaterialien berichtet, wobei jedoch auch für andere Metalloxide, wie Eisenoxide, antimikrobielle Effekte belegt wurden (Cheng et al. 2015; Ghiciuc et al. 2017;

Nardi et al. 2015; Zane et al. 2016). Eisenoxide und Titandioxidverbindungen werden oft als farbgebende Pigmente in dentalen Kompositen eingesetzt (Kappert und Eichner 2005; Schmidseeder 2008). Aus den Kenntnissen der antimikrobiellen Wirkung von Metalloxidzusätzen in dentalen Kompositmaterialien lässt sich auf eine antimikrobielle Wirkung farbgebender Pigmente rückschließen. Da TiO_2 als Pigment opazifizierend und aufhellend wirkt (Bertau et al. 2013; Schmidseeder 2008) liegt die Vermutung nahe, dass auf entsprechend hellen und opaken Kompositen eine vergleichsweise geringe Menge adhärenter Bakterien nachweisbar sein müsste. Dies konnte durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit jedoch nicht bestätigt werden. Auch bei Kompositen mit besonders intensiver Farbgebung und damit einem vermeintlich hohen Pigmentanteil, wie z. B. Heraeus Venus Diamond OXDC, konnte keine im Verhältnis zu den anderen Testmaterialien deutlich geringere Menge adhärenter Keime nachgewiesen werden. Wie die Zusammensetzungen der Grundmaterialien (Hersteller) *per se* sind auch die genauen Rezepturen zur Erzeugung der verschiedenen Farbgebungen der Testmaterialien nicht bekannt, sodass die ursächlichen Faktoren für die Unterschiede in der Bakterienanlagerung nicht bestimmt werden können. Die Literaturrecherche konnte keine Quellen über die Auswirkungen der Farbgebung von dentalen Kompositmaterialien auf die initiale bakterielle Adhäsion aufzeigen.

6.3 Schlussfolgerung

Die eingesetzte Methode war geeignet, den Einfluss von Rauheit und Oberflächenenergie auf die initiale Anlagerung von Bakterien zu überprüfen. Es konnten zwar teilweise signifikante Unterschiede in Rauheit und Oberflächenenergie gezeigt werden, trotzdem konnte keine eindeutige Korrelation zwischen einem der beiden Parameter und der Biofilmbildung dargestellt werden. In den mikrobiologischen Versuchen konnten signifikante Unterschiede in der Anlagerung der Testkeime zwischen einzelnen Testmaterialien beobachtet werden, die aber keinen allgemeinen Trend aufzeigten. Eine Korrelation zwischen Bakterienadhäsion von *S. sanguinis* und *S. mutans* und der Kompositfarbe oder ein durchgehender Unterschied in der Anlagerung zwischen verschiedenen Herstellern konnte ebenfalls nicht gezeigt werden. Im In-vitro-Versuch scheinen die Unterschiede in der Zusammensetzung verschiedenfarbiger Komposite keinen eindeutigen Einfluss auf die Quantität der adhärenenten Keime zu haben.

7 Zusammenfassung

Dentale Kompositmaterialien finden ihr Haupteinsatzgebiet in der Restauration von Zahnhartsubstanzdefekten, dabei gilt es, möglichst ästhetische Ergebnisse zu erzielen. Um dies zu ermöglichen, werden von den Herstellern Komposite in verschiedenen Farben mit unterschiedlicher Transluzenz bzw. Opazität angeboten. Sekundärkaries, also eine bakteriell bedingte Demineralisation und Zerstörung der Zahnhartsubstanz im Randbereich solcher Restaurationen, stellt einen der Hauptversagensgründe von direkten Füllungen dar. Im Rahmen der vorliegenden Studie sollte untersucht werden ob minimale Mischungsunterschiede bei Kompositmaterialien (aufgrund verschiedener Farbgebung) Einfluss auf die initiale Anlagerung von *S. mutans* und *S. sanguinis* haben. Dazu wurden insgesamt 33 unterschiedlich eingefärbte Materialien von drei verschiedenen Herstellern untersucht.

Von den Materialien wurden zunächst Probekörper hergestellt, deren Oberflächen nach einem standardisierten Verfahren poliert wurden. Die dreidimensionale Oberflächenstruktur und die Rauheit (R_a) der Testmaterialien wurden mittels Weitfeld-Konfokalmikroskopie ermittelt und die freie Oberflächenenergie durch automatisierte Kontaktwinkelmessung bestimmt. Die mikrobiologischen Versuche zur Adhäsion wurden zum einen mit dem Pionierkeim *Streptococcus sanguinis* und zum anderen mit dem Leitkeim der dentalen Karies *Streptococcus mutans* durchgeführt. Die Menge der adhärenenten Keime wurde indirekt über ein ATP-Biolumineszenz-Assay gemessen. Die gesamten Messergebnisse wurden anschließend statistisch ausgewertet.

Die Varianzanalyse zeigte signifikante Unterschiede der Rauheiten und der freien Oberflächenenergien, wobei die daran beteiligten Materialien nur bei 3 von 55 signifikant unterschiedlichen Vergleichen der bakteriellen Adhäsion wiederzufinden sind, bei denen sich ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Grundmaterialien (Hersteller) zeigten. Paarweise Vergleiche der bakteriellen Adhäsion, die innerhalb der Hersteller und der verwendeten Bakterienspezies durchgeführt wurden, zeigten in 14,5 % der Vergleiche signifikante Unterschiede, wobei lediglich eine dieser Vergleichspaarungen entsprechend der farblichen Kodierung bei zwei Herstellern zu finden war. Alle weiteren signifikanten Vergleiche fanden sich bei den verschiedenen Herstellern bei unterschiedlichen Farben, sodass keine Aussage darüber getroffen werden kann, bei welcher Farbkodierung eine erhöhte bzw. erniedrigte Bakterienanlagerung zu erwarten ist. Im Rahmen der vorliegenden Studie konnte kein eindeutiger Zusammenhang zwischen minimalen Mischungsunterschieden bei Kompositmaterialien (aufgrund verschiedener Farbgebung) auf die initiale Anlagerung von *S. mutans* und *S. sanguinis* gezeigt werden. Die wenigen statistisch

signifikanten Unterschiede zeigen keine eindeutige Tendenz, eine klinische Empfehlung, etwa zur Präferenz bestimmter Kompositfarben an Kariesprädispositionsstellen, lässt sich nicht ableiten.

8 Anhang

Tabelle 7: LOT-Nummern der verwendeten Materialien

Hersteller	Produkt	Farbe	LOT
VOCO	Grandio	A1	1725498
VOCO	Grandio	A2	1722175
VOCO	Grandio	A3	1727265
VOCO	Grandio	A3,5	1727130
VOCO	Grandio	A4	1725410
VOCO	Grandio	B1	1727266
VOCO	Grandio	B2	1720608
VOCO	Grandio	B3	1619686
VOCO	Grandio	C2	1639659
VOCO	Grandio	C3	1608631
VOCO	Grandio	D2	1647357
VOCO	Grandio	D3	1701260
VOCO	Grandio	OA2	1723528
VOCO	Grandio	OA3	1709643
VOCO	Grandio	Incisal	1712283
VOCO	Grandio	BL	1701254
Dentsply	Ceram.X Universal	A1	1703001235
Dentsply	Ceram.X Universal	A2	1707000334
Dentsply	Ceram.X Universal	A3	1707000296
Dentsply	Ceram.X Universal	A3,5	1707000496
Dentsply	Ceram.X Universal	A4	1702000155
Dentsply	Ceram.X Universal	BW	1703000767
Heraeus	Venus Diamond	A1	010049A
Heraeus	Venus Diamond	A2	010066A
Heraeus	Venus Diamond	A3	K010072
Heraeus	Venus Diamond	A3,5	010046A
Heraeus	Venus Diamond	A4	010045A
Heraeus	Venus Diamond	B2	010037A
Heraeus	Venus Diamond	B3	010030A
Heraeus	Venus Diamond	C2	010040A
Heraeus	Venus Diamond	D3	010030A
Heraeus	Venus Diamond	BL	010040A
Heraeus	Venus Diamond	OXDC	010028A

Tabelle 8: Endwerte der Versuche mit Dentsply Ceram.X Universal und *S. mutans* bzw. *S. sanguinis*

Material	Farbe	Bakterium	Min.	1st Qu.	Median	3rd Qu.	Max.
Dentsply Ceram.X Universal	A1	<i>S. mutans</i>	0.26	0.35	0.51	0.68	1.03
Dentsply Ceram.X Universal	A1	<i>S. sanguinis</i>	0.33	0.85	1.33	1.82	4.36
Dentsply Ceram.X Universal	A2	<i>S. mutans</i>	0.18	0.35	0.56	0.66	1.17
Dentsply Ceram.X Universal	A2	<i>S. sanguinis</i>	0.39	0.64	0.98	1.24	3.08
Dentsply Ceram.X Universal	A3	<i>S. mutans</i>	0.21	0.32	0.56	0.81	1.24
Dentsply Ceram.X Universal	A3	<i>S. sanguinis</i>	0.26	0.71	1.19	1.67	3.4
Dentsply Ceram.X Universal	A3,5	<i>S. mutans</i>	0.13	0.28	0.47	0.56	1.52
Dentsply Ceram.X Universal	A3,5	<i>S. sanguinis</i>	0.18	0.51	0.94	1.15	1.91
Dentsply Ceram.X Universal	A4	<i>S. mutans</i>	0.49	0.97	1.1	1.26	3.61
Dentsply Ceram.X Universal	A4	<i>S. sanguinis</i>	0	0.48	0.86	1.55	1.77
Dentsply Ceram.X Universal	BW	<i>S. mutans</i>	0.5	0.87	0.98	1.06	2.08
Dentsply Ceram.X Universal	BW	<i>S. sanguinis</i>	0.04	0.5	0.59	0.91	1.58
Heraeus Venus Diamond	A1	<i>S. mutans</i>	0.31	0.66	1.02	1.13	1.92
Heraeus Venus Diamond	A1	<i>S. sanguinis</i>	0.64	1.17	1.49	2.15	2.91
Heraeus Venus Diamond	A2	<i>S. mutans</i>	0.24	0.46	0.79	1.14	1.51
Heraeus Venus Diamond	A2	<i>S. sanguinis</i>	0.78	1.51	2.09	2.99	4.9
Heraeus Venus Diamond	A3	<i>S. mutans</i>	0.19	0.47	0.6	0.83	1.52
Heraeus Venus Diamond	A3	<i>S. sanguinis</i>	0.77	1.09	1.54	2.23	4.82
Heraeus Venus Diamond	A3,5	<i>S. mutans</i>	0.13	0.42	0.64	0.91	4.36
Heraeus Venus Diamond	A3,5	<i>S. sanguinis</i>	0.71	1.15	1.68	2.07	3.51
Heraeus Venus Diamond	A4	<i>S. mutans</i>	0.3	0.43	0.61	0.68	1.66
Heraeus Venus Diamond	A4	<i>S. sanguinis</i>	0.41	0.64	0.91	1.59	2.54
Heraeus Venus Diamond	B2	<i>S. mutans</i>	0.34	0.58	1.01	1.27	1.48
Heraeus Venus Diamond	B2	<i>S. sanguinis</i>	0.63	1.18	1.43	1.85	3.9
Heraeus Venus Diamond	B3	<i>S. mutans</i>	0.23	0.49	0.67	1.12	1.68

Material	Farbe	Bakterium	Min.	1st Qu.	Median	3rd Qu.	Max.
Heraeus Venus Diamond	B3	<i>S. sanguinis</i>	0.28	1.25	1.89	2.48	3.72
Heraeus Venus Diamond	BL	<i>S. mutans</i>	0.27	0.4	0.72	0.82	1.45
Heraeus Venus Diamond	BL	<i>S. sanguinis</i>	0.27	0.68	0.88	1.36	3.87
Heraeus Venus Diamond	C2	<i>S. mutans</i>	0.17	0.35	0.53	0.98	3.4
Heraeus Venus Diamond	C2	<i>S. sanguinis</i>	0.27	0.84	1.29	1.96	2.68
Heraeus Venus Diamond	D3	<i>S. mutans</i>	0.26	0.58	0.82	1.21	2.87
Heraeus Venus Diamond	D3	<i>S. sanguinis</i>	0.16	0.75	0.94	1.09	2.91
Heraeus Venus Diamond	OXDC	<i>S. mutans</i>	0.27	0.45	0.64	0.77	1.91
Heraeus Venus Diamond	OXDC	<i>S. sanguinis</i>	0.56	0.77	0.91	1.22	1.38
VOCO Grandio	A1	<i>S. mutans</i>	0.29	0.53	0.81	0.9	1.52
VOCO Grandio	A1	<i>S. sanguinis</i>	0.49	0.62	1.02	1.21	2.38
VOCO Grandio	A2	<i>S. mutans</i>	0.18	0.62	0.82	1.05	1.86
VOCO Grandio	A2	<i>S. sanguinis</i>	0.14	0.71	0.92	1.11	2.21
VOCO Grandio	A3	<i>S. mutans</i>	0.44	0.6	0.75	1.33	1.59
VOCO Grandio	A3	<i>S. sanguinis</i>	0.31	0.44	0.66	1.26	2.52
VOCO Grandio	A3,5	<i>S. mutans</i>	0.15	0.4	0.78	0.98	1.28
VOCO Grandio	A3,5	<i>S. sanguinis</i>	0.27	0.59	0.84	1.28	2.08
VOCO Grandio	A4	<i>S. mutans</i>	0.1	0.37	0.85	1.14	1.94
VOCO Grandio	A4	<i>S. sanguinis</i>	0.08	0.27	0.41	0.81	3.23
VOCO Grandio	B1	<i>S. mutans</i>	0.41	0.73	0.92	1.08	2.43
VOCO Grandio	B1	<i>S. sanguinis</i>	0.21	0.36	0.84	1.05	1.97
VOCO Grandio	B2	<i>S. mutans</i>	0.44	0.72	0.99	1.2	2.4
VOCO Grandio	B2	<i>S. sanguinis</i>	0.26	0.53	0.69	1.48	2.78
VOCO Grandio	B3	<i>S. mutans</i>	0.41	0.73	0.98	1.1	1.88
VOCO Grandio	B3	<i>S. sanguinis</i>	0.26	0.36	0.53	0.89	1.84
VOCO Grandio	BL	<i>S. mutans</i>	0.2	0.31	0.5	0.71	1.2
VOCO Grandio	BL	<i>S. sanguinis</i>	0.3	1.08	1.44	1.67	3.23

Material	Farbe	Bakterium	Min.	1st Qu.	Median	3rd Qu.	Max.
VOCO Grandio	C2	<i>S. mutans</i>	0.39	0.57	0.96	1.23	1.68
VOCO Grandio	C2	<i>S. sanguinis</i>	0.09	0.32	0.53	0.75	2.43
VOCO Grandio	C3	<i>S. mutans</i>	0.13	0.6	0.75	1.13	1.32
VOCO Grandio	C3	<i>S. sanguinis</i>	0.07	0.22	0.44	0.6	1.43
VOCO Grandio	D2	<i>S. mutans</i>	0.31	0.62	0.81	1.38	2.6
VOCO Grandio	D2	<i>S. sanguinis</i>	0.73	1.01	1.35	2.33	3.6
VOCO Grandio	D3	<i>S. mutans</i>	0.39	0.59	0.69	1.39	2.53
VOCO Grandio	D3	<i>S. sanguinis</i>	0.46	0.88	1.3	1.81	2.89
VOCO Grandio	Incisal	<i>S. mutans</i>	0.45	0.59	0.7	1.02	1.65
VOCO Grandio	Incisal	<i>S. sanguinis</i>	0.21	0.62	0.94	1.58	2.55
VOCO Grandio	OA2	<i>S. mutans</i>	0.32	0.6	1.12	1.39	3.18
VOCO Grandio	OA2	<i>S. sanguinis</i>	0.37	0.94	1.21	1.8	2.89
VOCO Grandio	OA3,5	<i>S. mutans</i>	0.24	0.58	0.77	0.87	3.49
VOCO Grandio	OA3,5	<i>S. sanguinis</i>	0.32	0.79	0.92	1.69	3.04

9 Literaturverzeichnis

- Absolom DR, Lamberti FV, Policova Z, Zingg W, van Oss CJ, Neumann AW (1983): Surface thermodynamics of bacterial adhesion. *Appl Environ Microbiol* 46, 90–97
- Abu-Bakr N, Han L, Okamoto A, Iwaku M (2001): Evaluation of the surface roughness of compomer by laser scanning microscopy. *Dent Mater J* 20, 172–180
- Ahmed SA, Gogal RM, Walsh JE (1994): A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [3H]thymidine incorporation assay. *J Immunol Methods* 170, 211–224
- Ajdić D, McShan WM, McLaughlin RE, Savić G, Chang J, Carson MB, Primeaux C, Tian R, Kenton S, Jia H, et al. (2002): Genome sequence of *Streptococcus mutans* UA159, a cariogenic dental pathogen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99, 14434–14439
- Al-Marzok MI, Al-Azzawi HJ (2009): The effect of the surface roughness of porcelain on the adhesion of oral *Streptococcus mutans*. *J Contemp Dent Pract* 10, E017-024
- Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A (1999): Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. *J Dent Res* 78, 1821–1828
- Ammann TW, Belibasakis GN, Thurnheer T (2013): Impact of early colonizers on in vitro subgingival biofilm formation. *PloS One* 8, e83090
- An YH, Friedman RJ (1998): Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *J Biomed Mater Res* 43, 338–348
- Andrade JD, Smith LM, Gregonis DE: The Contact Angle and Interface Energetics. In: Andrade JD (Hrsg.): *Surface and Interfacial Aspects of Biomedical Polymers*; Springer, Boston 1985, 249–292
- Antony K, Genser D, Hiebinger C, Windisch F (2008): Longevity of dental amalgam in comparison to composite materials. *GMS Health Technol Assess* 4, Doc12
- Ardenne M von: *Elektronen-Übermikroskopie: Physik · Technik · Ergebnisse*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 1940
- Auschill TM, Arweiler NB, Brex M, Reich E, Sculean A, Netuschil L (2002): The effect of dental restorative materials on dental biofilm. *Eur J Oral Sci* 110, 48–53
- Austin RS, Giusca CL, Macaulay G, Moazzez R, Bartlett DW (2016): Confocal laser scanning microscopy and area-scale analysis used to quantify enamel surface textural changes from citric acid demineralization and salivary remineralization in vitro. *Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater* 32, 278–284
- Aydin Sevinç B, Hanley L (2010): Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 94, 22–31
- Aykent F, Yondem I, Ozyesil AG, Gunal SK, Avunduk MC, Ozkan S (2010): Effect of different finishing techniques for restorative materials on surface roughness and bacterial adhesion. *J Prosthet Dent* 103, 221–227
- Bashetty K, Joshi S (2010): The effect of one-step and multi-step polishing systems on surface texture of two different resin composites. *J Conserv Dent JCD* 13, 34–38

- Battersby PD, Battersby SJ (2015): Measurements and modelling of the influence of dentine colour and enamel on tooth colour. *J Dent* 43, 373–381
- Bender K: Entwicklung und Charakterisierung verschiedener biomimetischer Lipidmembransysteme zur Untersuchung von Membranproteinen. Cuvillier Verlag, Göttingen 2005
- Bernardo M, Luis H, Martin MD, Leroux BG, Rue T, Leitão J, DeRouen TA (2007): Survival and reasons for failure of amalgam versus composite posterior restorations placed in a randomized clinical trial. *J Am Dent Assoc* 1939 138, 775–783
- Berridge MV, Herst PM, Tan AS (2005): Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. *Biotechnol Annu Rev* 11, 127–152
- Bertau M, Müller A, Fröhlich P, Katzberg M: Industrielle Anorganische Chemie. 4., vollst. überarb. u. aktual. Auflage; John Wiley & Sons, Weinheim 2013
- Beyth N, Domb AJ, Weiss EI (2007): An in vitro quantitative antibacterial analysis of amalgam and composite resins. *J Dent* 35, 201–206
- Beyth N, Bahir R, Matalon S, Domb AJ, Weiss EI (2008): Streptococcus mutans biofilm changes surface-topography of resin composites. *Dent Mater* 24, 732–736
- Beyth N, Yudovin-Farber I, Perez-Davidi M, Domb AJ, Weiss EI (2010): Polyethyleneimine nanoparticles incorporated into resin composite cause cell death and trigger biofilm stress in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 22038–22043
- BGTB: Schematische Darstellung des Mittenrauwertes. BGTB GmbH, <http://www.tiefbohren.info> 2017
- Boks NP, Norde W, van der Mei HC, Busscher HJ (2008): Forces involved in bacterial adhesion to hydrophilic and hydrophobic surfaces. *Microbiol Read Engl* 154, 3122–3133
- Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M (1997): Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dent Mater* 13, 258–269
- Borgia E, Baron R, Borgia JL (2017): Quality and Survival of Direct Light-Activated Composite Resin Restorations in Posterior Teeth: A 5- to 20-Year Retrospective Longitudinal Study. *J Prosthodont*. doi:10.1111/jopr.12630
- Borlinghaus RT: Unbegrenzte Lichtmikroskopie: Über Auflösung und Super-Hochauflösung und die Frage, ob man Moleküle sehen kann. Springer-Verlag, Wiesbaden 2016
- Bos R, van der Mei HC, Busscher HJ (1999): Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions--its mechanisms and methods for study. *FEMS Microbiol Rev* 23, 179–230
- Bowden GH, Hamilton IR (1987): Environmental pH as a factor in the competition between strains of the oral streptococci Streptococcus mutans, S. sanguis, and „S. mitior“ growing in continuous culture. *Can J Microbiol* 33, 824–827
- Bradshaw DJ, McKee AS, Marsh PD (1989): Effects of carbohydrate pulses and pH on population shifts within oral microbial communities in vitro. *J Dent Res* 68, 1298–1302
- Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson GK, Allison C (1998): Role of Fusobacterium nucleatum and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. *Infect Immun* 66, 4729–4732

- Bradshaw DJ, Walker JT, Burger B, Gangnus B, Marsh PD (2001): In vitro modeling of biofouling of dental composite materials. *Methods Enzymol* 337, 416–425
- Brambilla E, Cagetti MG, Gagliani M, Fadini L, García-Godoy F, Strohmer L (2005): Influence of different adhesive restorative materials on mutans streptococci colonization. *Am J Dent* 18, 173–176
- Broukal Z, Zajíček O (1974): Amount and distribution of extracellular polysaccharides in dental microbial plaque. *Caries Res* 8, 97–104
- Buergers R, Rosentritt M, Handel G (2007): Bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* to provisional fixed prosthodontic material. *J Prosthet Dent* 98, 461–469
- Buergers R, Rosentritt M, Schneider-Brachert W, Behr M, Handel G, Hahnel S (2008): Efficacy of denture disinfection methods in controlling *Candida albicans* colonization in vitro. *Acta Odontol Scand* 66, 174–180
- Buergers R, Schneider-Brachert W, Hahnel S, Rosentritt M, Handel G (2009): Streptococcal adhesion to novel low-shrink silorane-based restorative. *Dent Mater* 25, 269–275
- Bürgers R, Cariaga T, Müller R, Rosentritt M, Reischl U, Handel G, Hahnel S (2009a): Effects of aging on surface properties and adhesion of *Streptococcus mutans* on various fissure sealants. *Clin Oral Investig* 13, 419–426
- Bürgers R, Eidt A, Frankenberger R, Rosentritt M, Schweikl H, Handel G, Hahnel S (2009b): The anti-adherence activity and bactericidal effect of microparticulate silver additives in composite resin materials. *Arch Oral Biol* 54, 595–601
- Bürgers R, Hahnel S, Reichert TE, Rosentritt M, Behr M, Gerlach T, Handel G, Gosau M (2010a): Adhesion of *Candida albicans* to various dental implant surfaces and the influence of salivary pellicle proteins. *Acta Biomater* 6, 2307–2313
- Bürgers R, Hahnel S, Rosentritt M, Handel G (2010b): Biofilmbildung auf dentalen Implantatoberflächen. *ZWR - Dtsch Zahnärztebl* 119, 244–252
- Bürgers R, Gerlach T, Hahnel S, Schwarz F, Handel G, Gosau M (2010c): In vivo and in vitro biofilm formation on two different titanium implant surfaces. *Clin Oral Implants Res* 21, 156–164
- Burgess RC (1988): Dental Caries. *Can Fam Physician* 34, 1341–1347
- Busscher HJ, Weerkamp AH, van der Mei HC, van Pelt AW, de Jong HP, Arends J (1984a): Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion. *Appl Environ Microbiol* 48, 980–983
- Busscher HJ, van Pelt AWJ, de Boer P, de Jong HP, Arends J (1984b): The effect of surface roughening of polymers on measured contact angles of liquids. *Colloids Surf* 2, 319–331
- Busscher HJ, Doornbusch GI, Van der Mei HC (1992): Adhesion of mutants streptococci to glass with and without a salivary coating as studied in a parallel-plate flow chamber. *J Dent Res* 71, 491–500
- Busscher HJ, Bos R, van der Mei HC (1995): Initial microbial adhesion is a determinant for the strength of biofilm adhesion. *FEMS Microbiol Lett* 128, 229–234
- Busscher HJ, Rinastiti M, Siswomihardjo W, van der Mei HC (2010): Biofilm Formation on Dental Restorative and Implant Materials. *J Dent Res* 89, 657–665

- Carlen A, Olsson J, Borjesson AC (1996a): Saliva-mediated binding in vitro and prevalence in vivo of *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol* 41, 35–39
- Carlén A, Olsson J, Ramberg P (1996b): Saliva mediated adherence, aggregation and prevalence in dental plaque of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces* spp, in young and elderly humans. *Arch Oral Biol* 41, 1133–1140
- Casiano-Colón A, Marquis RE (1988): Role of the arginine deiminase system in protecting oral bacteria and an enzymatic basis for acid tolerance. *Appl Environ Microbiol* 54, 1318–1324
- Caufield PW, Dasanayake AP, Li Y, Pan Y, Hsu J, Hardin JM (2000): Natural history of *Streptococcus sanguinis* in the oral cavity of infants: evidence for a discrete window of infectivity. *Infect Immun* 68, 4018–4023
- Cheab Z, Rakmathulina E, Lussi A, Eick S (2015): Impact of Acquired Pellicle Modification on Adhesion of Early Colonizers. *Caries Res* 49, 626–632
- Cheng L, Zhang K, Weir MD, Melo MAS, Zhou X, Xu HH (2015): Nanotechnology strategies for antibacterial and remineralizing composites and adhesives to tackle dental caries. *Nanomed* 10, 627–641
- Chibowski E, Perea-Carpio R (2002): Problems of contact angle and solid surface free energy determination. *Adv Colloid Interface Sci* 98, 245–264
- Chour RG, Moda A, Arora A, Arafath MY, Shetty VK, Rishal Y (2016): Comparative evaluation of effect of different polishing systems on surface roughness of composite resin: An in vitro study. *J Int Soc Prev Community Dent* 6, S166-170
- Chu SJ, Trushkowsky RD, Paravina RD (2010): Dental color matching instruments and systems. Review of clinical and research aspects. *J Dent* 38 Suppl 2, e2-16
- Chun S, Huh HJ, Lee NY (2015): Species-specific difference in antimicrobial susceptibility among viridans group streptococci. *Ann Lab Med* 35, 205–211
- Coenye T, Nelis HJ (2010): In vitro and in vivo model systems to study microbial biofilm formation. *J Microbiol Methods* 83, 89–105
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP (1999): Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284, 1318–1322
- Craig RG, Powers JM, Wataha JC: *Zahnärztliche Werkstoffe: Eigenschaften und Verarbeitung*. Elsevier, Urban&FischerVerlag, München 2006
- Cross SE, Kreth J, Zhu L, Sullivan R, Shi W, Qi F, Gimzewski JK (2007): Nanomechanical properties of glucans and associated cell-surface adhesion of *Streptococcus mutans* probed by atomic force microscopy under in situ conditions. *Microbiol Read Engl* 153, 3124–3132
- Cross SE, Kreth J, Wali RP, Sullivan R, Shi W, Gimzewski JK (2009): Evaluation of bacteria-induced enamel demineralization using optical profilometry. *Dent Mater* 25, 1517–1526
- Crouch SP, Kozłowski R, Slater KJ, Fletcher J (1993): The use of ATP bioluminescence as a measure of cell proliferation and cytotoxicity. *J Immunol Methods* 160, 81–88
- Czekanska EM (2011): Assessment of cell proliferation with resazurin-based fluorescent dye. *Methods Mol Biol* 740, 27–32
- Dahl JE, Eriksen HM (1978): Reasons for replacement of amalgam dental restorations. *Scand J Dent Res* 86, 404–407

- Daud A, Gray G, Lynch CD, Wilson NHF, Blum IR (2018): A randomised controlled study on the use of finishing and polishing systems on different resin composites using 3D contact optical profilometry and scanning electron microscopy. *J Dent* 71, 25–30
- de Jong HP, de Boer P, Busscher HJ, van Pelt AW, Arends J (1984): Surface free energy changes of human enamel during pellicle formation. An in vivo study. *Caries Res* 18, 408–415
- De Moraes RR, Marimon JLM, Jochims Schneider LF, Sinhoreti MAC, Correr-Sobrinho L, Bueno M (2008): Effects of 6 Months of Aging in Water on Hardness and Surface Roughness of Two Microhybrid Dental Composites. *J Prosthodont* 17, 323–326
- Dexter SJ, Cámara M, Davies M, Shakesheff KM (2003): Development of a bioluminescent ATP assay to quantify mammalian and bacterial cell number from a mixed population. *Biomaterials* 24, 27–34
- Diaz PI, Chalmers NI, Rickard AH, Kong C, Milburn CL, Palmer RJ, Kolenbrander PE (2006): Molecular characterization of subject-specific oral microflora during initial colonization of enamel. *Appl Environ Microbiol* 72, 2837–2848
- Doenecke D, Koolman J, Fuchs G, Gerok W: *Karlsons Biochemie und Pathobiochemie*. 15., komplett überarb. u. neugestaltete Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2005
- Dominghaus H (Begründer): *Kunststoffe: Eigenschaften und Anwendungen*. Hrsg. v. Elsner P, Eyerer P, Hirth T. 7., neu bearb. u. erw. Auflage; Springer-Verlag, Berlin u. a. 2008
- Donlan RM, Costerton JW (2002): Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 15, 167–193
- Douglas CW (1983): The binding of human salivary alpha-amylase by oral strains of streptococcal bacteria. *Arch Oral Biol* 28, 567–573
- Duparré A, Ferre-Borrull J, Gliech S, Notni G, Steinert J, Bennett JM (2002): Surface characterization techniques for determining the root-mean-square roughness and power spectral densities of optical components. *Appl Opt* 41, 154–171
- Eaton P, West P: *Atomic Force Microscopy*. Oxford University Press, Oxford New York 2010
- Eginton PJ, Holah J, Allison DG, Handley PS, Gilbert P (1998): Changes in the strength of attachment of micro-organisms to surfaces following treatment with disinfectants and cleansing agents. *Lett Appl Microbiol* 27, 101–105
- Elter C, Heuer W, Demling A, Hannig M, Heidenblut T, Bach F-W, Stiesch-Scholz M (2008): Supra- and subgingival biofilm formation on implant abutments with different surface characteristics. *Int J Oral Maxillofac Implants* 23, 327–334
- Ereifej NS, Oweis YG, Eliades G (2013): The effect of polishing technique on 3-D surface roughness and gloss of dental restorative resin composites. *Oper Dent* 38, E1-12
- Ferracane JL, Berge HX, Condon JR (1998): In vitro aging of dental composites in water—Effect of degree of conversion, filler volume, and filler/matrix coupling. *J Biomed Mater Res* 42, 465–472
- Flemming H-C, Neu TR, Wozniak DJ (2007): The EPS matrix: the „house of biofilm cells“. *J Bacteriol* 189, 7945–7947
- Fortin D, Vargas MA (2000): The spectrum of composites: new techniques and materials. *J Am Dent Assoc* 1939 131 Suppl, 26S-30S

- Gadelmawla ES, Koura MM, Maksoud TMA, Elewa IM, Soliman HH (2002): Roughness parameters. *J Mater Process Technol* 123, 133–145
- García-Godoy F, Hicks MJ (2008): 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* 1939 139 Suppl, 25S-34S
- Ge X, Kitten T, Chen Z, Lee SP, Munro CL, Xu P (2008): Identification of *Streptococcus sanguinis* genes required for biofilm formation and examination of their role in endocarditis virulence. *Infect Immun* 76, 2551–2559
- Geraldeli S, Soares EF, Alvarez AJ, Farivar T, Shields RC, Sinhoreti MAC, Nascimento MM (2017): A new arginine-based dental adhesive system: formulation, mechanical and anti-caries properties. *J Dent* 63, 72–80
- Ghiciuc CM, Ghiciuc ON, Ochiuz L, Lupușoru CE: Antibacterial effects of metal oxides-containing nanomaterials in dentistry. In: 2017 E-Health and Bioengineering Conference (EHB). Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE), o. O. 2017, 365–368
- Gibbons RJ, van Houte J (1973): On the formation of dental plaques. *J Periodontol* 44, 347–360
- Girault HHJ, Schiffrin DJ, Smith BDV (1984): The measurement of interfacial tension of pendant drops using a video image profile digitizer. *J Colloid Interface Sci* 101, 257–266
- Gogniat G, Thyssen M, Denis M, Pulgarin C, Dukan S (2006): The bactericidal effect of TiO₂ photocatalysis involves adsorption onto catalyst and the loss of membrane integrity. *FEMS Microbiol Lett* 258, 18–24
- Goldstein J, Newbury DE, Joy DC, Lyman CE, Echlin P, Lifshin E, Sawyer L, Michael JR: Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis: Third Edition. Springer Science & Business Media, New York 2012
- Gonçalves F, Pfeifer CS, Ferracane JL, Braga RR (2008): Contraction stress determinants in dimethacrylate composites. *J Dent Res* 87, 367–371
- Good RJ (1992): Contact angle, wetting, and adhesion: a critical review. *J Adhes Sci Technol* 6, 1269–1302
- Grivet M, Morrier JJ, Benay G, Barsotti O (2000): Effect of hydrophobicity on in vitro streptococcal adhesion to dental alloys. *J Mater Sci Mater Med* 11, 637–642
- Gyurkovics M, Baumann T, Carvalho TS, Assunção CM, Lussi A (2017): In vitro evaluation of modified surface microhardness measurement, focus variation 3D microscopy and contact stylus profilometry to assess enamel surface loss after erosive-abrasive challenges. *PloS One* 12, e0175027
- Hahn H, Miksits K, Gatermann S: Streptokokken. In: Hahn H, Falke D, Kaufmann SHE, Ullmann U (Hrsg.): *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*; Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 2005, 199–219
- Hahnel S, Rosentritt M, Bürgers R, Handel G (2008a): Adhesion of *Streptococcus mutans* NCTC 10449 to artificial teeth: an in vitro study. *J Prosthet Dent* 100, 309–315
- Hahnel S, Rosentritt M, Handel G, Bürgers R (2008b): Influence of saliva substitute films on initial *Streptococcus mutans* adhesion to enamel and dental substrata. *J Dent* 36, 977–983

- Hahnel S, Rosentritt M, Bürgers R, Handel G (2008c): Surface properties and in vitro *Streptococcus mutans* adhesion to dental resin polymers. *J Mater Sci Mater Med* 19, 2619–2627
- Hahnel S, Ettl T, Gosau M, Rosentritt M, Handel G, Bürgers R (2010): Influence of saliva substitute films on the initial adhesion of *Candida albicans* to dental substrata prior to and after artificial ageing. *Arch Oral Biol* 55, 391–396
- Haisch C, Niessner R (2007): Visualisation of transient processes in biofilms by optical coherence tomography. *Water Res* 41, 2467–2472
- Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P (2004): Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2, 95–108
- Han Z, Zhu B, Chen R, Huang Z, Zhu C, Zhang X (2015): Effect of silver-supported materials on the mechanical and antibacterial properties of reinforced acrylic resin composites. *Mater Des* 1980–2015 65, 1245–1252
- Hannig C, Hannig M (2009): The oral cavity—a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man. *Clin Oral Investig* 13, 123–139
- Hannig C, Ruggeri A, Al-Khayer B, Schmitz P, Spitzmüller B, Deimling D, Huber K, Hoth-Hannig W, Bowen WH, Hannig M (2008): Electron microscopic detection and activity of glucosyltransferase B, C, and D in the in situ formed pellicle. *Arch Oral Biol* 53, 1003–1010
- Hannig M (1999): Transmission electron microscopy of early plaque formation on dental materials in vivo. *Eur J Oral Sci* 107, 55–64
- Hannig M, Joiner A (2006): The structure, function and properties of the acquired pellicle. *Monogr Oral Sci* 19, 29–64
- Hannig M, Döbert A, Stigler R, Müller U, Prokhorova SA (2004): Initial salivary pellicle formation on solid substrates studied by AFM. *J Nanosci Nanotechnol* 4, 532–538
- Hansel C, Leyhausen G, Mai UE, Geurtsen W (1998): Effects of various resin composite (co)monomers and extracts on two caries-associated micro-organisms in vitro. *J Dent Res* 77, 60–67
- Hansen MB, Nielsen SE, Berg K (1989): Re-examination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill. *J Immunol Methods* 119, 203–210
- Haus J: *Optische Mikroskopie: Funktionsweise und Kontrastierverfahren*. John Wiley & Sons, Weinheim 2014
- Hauser-Gerspach I, Kulik EM, Weiger R, Decker E-M, Von Ohle C, Meyer J (2007): Adhesion of *Streptococcus sanguinis* to dental implant and restorative materials in vitro. *Dent Mater J* 26, 361–366
- Heintze SD, Cavalleri A, Forjanic M, Zellweger G, Rousson V (2006): A comparison of three different methods for the quantification of the in vitro wear of dental materials. *Dent Mater* 22, 1051–1062
- Hellwig E, Klimek J, Attin T: *Einführung in die Zahnerhaltung*. 6. überarb. Auflage; Deutscher Zahnärzte-Verlag, Köln 2013
- Herbst W, Hunger K: *Industrielle organische pigmente*. John Wiley & Sons 2009

- Hervás-García A, Martínez-Lozano MA, Cabanes-Vila J, Barjau-Escribano A, Fos-Galve P (2006): Composite resins. A review of the materials and clinical indications. *Med Oral Patol Oral Cirugia Bucal* 11, E215-220
- Hoffmann A: Über das Wesen der Zahnfarbe, Zahnfarbmessung und dentaloptischer Phänomene: neue Theorien, wissenschaftliche Erkenntnisse und neuartige Methoden. Athene Media, Dinslaken 2010
- Hojo K, Nagaoka S, Ohshima T, Maeda N (2009): Bacterial interactions in dental biofilm development. *J Dent Res* 88, 982–990
- Holden MT, Ram Chhabra S, de Nys R, Stead P, Bainton NJ, Hill PJ, Manefield M, Kumar N, Labatte M, England D, et al. (1999): Quorum-sensing cross talk: isolation and chemical characterization of cyclic dipeptides from *Pseudomonas aeruginosa* and other gram-negative bacteria. *Mol Microbiol* 33, 1254–1266
- Huang R, Li M, Gregory RL (2011): Bacterial interactions in dental biofilm. *Virulence* 2, 435–444
- Huang X, Schulte RM, Burne RA, Nascimento MM (2015): Characterization of the arginolytic microflora provides insights into pH homeostasis in human oral biofilms. *Caries Res* 49, 165–176
- Huang X, Palmer SR, Ahn S-J, Richards VP, Williams ML, Nascimento MM, Burne RA (2016): A Highly Arginolytic *Streptococcus* Species That Potently Antagonizes *Streptococcus mutans*. *Appl Environ Microbiol* 82, 2187–2201
- Ilie N, Kunzelmann KH, Hickel R (2005): Werkstoffkundliche Untersuchungen zu Kompositen. *Dtsch Zahnärztl Z* 60, 321–334
- Ilie N, Lohbauer U, Rosentritt M (2016a): Lichtpolymerisation. *ZWR - Dtsch Zahnärztebl* 125, 284–289
- Ilie N, Rosentritt M, Lohbauer U (2016b): Update Materialforschung – direkte kunststoffbasierte Komposite. *Dtsch Zahnärztebl* 125, 2–7
- Ionescu A, Wutscher E, Brambilla E, Schneider-Feyrer S, Giessibl FJ, Hahnel S (2012): Influence of surface properties of resin-based composites on in vitro *Streptococcus mutans* biofilm development. *Eur J Oral Sci* 120, 458–465
- Ishiyama M, Shiga M, Sasamoto K, Mizoguchi M, He P (1993): A New Sulfonated Tetrazolium Salt That Produces a Highly Water-Soluble Formazan Dye. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 41, 1118–1122
- James SA, Hilal N, Wright CJ (2017): Atomic force microscopy studies of bioprocess engineering surfaces - imaging, interactions and mechanical properties mediating bacterial adhesion. *Biotechnol J* 12, doi:10.1002/biot.201600698
- Javanbakht T, Laurent S, Stanicki D, Wilkinson KJ (2016): Relating the Surface Properties of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs) to Their Bactericidal Effect towards a Biofilm of *Streptococcus mutans*. *PloS One* 11, e0154445
- Jung M, Hornung K, Klimek J (2005): Polishing occlusal surfaces of direct Class II composite restorations in vivo. *Oper Dent* 30, 139
- Jung M, Eichelberger K, Klimek J (2007): Surface Geometry of Four Nanofiller and One Hybrid Composite After One-step and Multiple-step Polishing. *Oper Dent* 32, 347–355

- Juriaanse AC, Booij M, Arends J, ten Bosch JJ (1981): The adsorption in vitro of purified salivary proteins on bovine dental enamel. *Arch Oral Biol* 26, 91–96
- Kaelble DH (1970): Dispersion-Polar Surface Tension Properties of Organic Solids. *J Adhes* 2, 66–81
- Kantorski KZ, Scotti R, Valandro LF, Bottino MA, Koga-Ito CY, Jorge AO (2008): Adherence of *Streptococcus mutans* to uncoated and saliva-coated glass-ceramics and composites. *Gen Dent* 56, 740–747
- Kappert HF, Eichner K: Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung. 1. Grundlagen und Verarbeitung. Band 1; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2005
- Karatan E, Watnick P (2009): Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms. *Microbiol Mol Biol Rev* 73, 310–347
- Karched M, Bhardwaj RG, Asikainen SE (2015): Coaggregation and biofilm growth of *Granulicatella* spp. with *Fusobacterium nucleatum* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *BMC Microbiol* 15, 114
- Kasraei S, Sami L, Hendi S, AliKhani M-Y, Rezaei-Soufi L, Khamverdi Z (2014): Antibacterial properties of composite resins incorporating silver and zinc oxide nanoparticles on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*. *Restor Dent Endod* 39, 109–114
- Katsikogianni M, Missirlis YF (2004): Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur Cell Mater* 8, 37–57
- Kawashita Y, Kitamura M, Saito T (2011): Early childhood caries. *Int J Dent* 2011, 725320
- Khammissa R a. G, Feller L, Meyerov R, Lemmer J (2012a): Peri-implant mucositis and peri-implantitis: bacterial infection. *SADJ* 67, 70, 72–74
- Khammissa R a. G, Feller L, Meyerov R, Lemmer J (2012b): Peri-implant mucositis and peri-implantitis: clinical and histopathological characteristics and treatment. *SADJ* 67, 122, 124–126
- Klein M, Kiehl P, Breutmann N, Goethe W, Grode H-P, Liess E, Machert D, Wehrstedt A, Wende I, Zentner F: Einführung in die DIN-Normen. 13. neubearb. u. erw. Auflage; Beuth-Verlag, Berlin Wien Zürich; Teubner-Verlag, Stuttgart Leipzig Wiesbaden 2001
- Kocher T, Langenbeck N, Rosin M, Bernhardt O (2002): Methodology of three-dimensional determination of root surface roughness. *J Periodontol Res* 37, 125–131
- Konishi N, Torii Y, Kurosaki A, Takatsuka T, Itota T, Yoshiyama M (2003): Confocal laser scanning microscopic analysis of early plaque formed on resin composite and human enamel. *J Oral Rehabil* 30, 790–795
- Koo H, Xiao J, Klein MI (2009): Extracellular polysaccharides matrix--an often forgotten virulence factor in oral biofilm research. *Int J Oral Sci* 1, 229–234
- Koolman J, Röhm K-H: Taschenatlas der Biochemie. 3., vollst. überarb. u. erw. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2003
- Kopperud SE, Tveit AB, Gaarden T, Sandvik L, Espelid I (2012): Longevity of posterior dental restorations and reasons for failure. *Eur J Oral Sci* 120, 539–548

- Korhonen JT, Huhtamäki T, Ikkala O, Ras RHA (2013): Reliable Measurement of the Receding Contact Angle. *Langmuir* 29, 3858–3863
- Krämer J, Prange A: *Lebensmittel-Mikrobiologie*. 7., vollst. überarb. Auflage: Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart 2016
- Kreth J, Merritt J, Shi W, Qi F (2005): Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. *J Bacteriol* 187, 7193–7203
- Kreth J, Zhu L, Merritt J, Shi W, Qi F (2008): Role of sucrose in the fitness of *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiol Immunol* 23, 213–219
- Kreth J, Vu H, Zhang Y, Herzberg MC (2009): Characterization of hydrogen peroxide-induced DNA release by *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus gordonii*. *J Bacteriol* 191, 6281–6291
- Krüss: Schematische Darstellung des Kontaktwinkels. Krüss GmbH, <https://www.kruss-scientific.com> 2017
- <https://www.kruss-scientific.com/de/service/schulung-theorie/substanzdaten/festkoerper/>; Zugriff am 12.03.2018
- Kuper NK, Opdam NJM, Bronkhorst EM, Huysmans MCDNJM (2012): The influence of approximal restoration extension on the development of secondary caries. *J Dent* 40, 241–247
- Kwok DY, Neumann AW (1999): Contact angle measurement and contact angle interpretation. *Adv Colloid Interface Sci* 81, 167–249
- Labib RS, Calvanico NJ, Tomasi TB (1978): Studies on extracellular proteases of *Streptococcus sanguis*. Purification and characterization of a human IgA1 specific protease. *Biochim Biophys Acta* 526, 547–559
- Lam CNC, Wu R, Li D, Hair ML, Neumann AW (2002): Study of the advancing and receding contact angles: liquid sorption as a cause of contact angle hysteresis. *Adv Colloid Interface Sci* 96, 169–191
- Lange DA, Jennings HM, Shah SP (1993): Analysis of surface roughness using confocal microscopy. *J Mater Sci* 28, 3879–3884
- Lassila LVJ, Garoushi S, Tanner J, Vallittu PK, Söderling E (2009): Adherence of *Streptococcus mutans* to Fiber-Reinforced Filling Composite and Conventional Restorative Materials. *Open Dent J* 3, 227–232
- Lawrence JR, Korber DR, Hoyle BD, Costerton JW, Caldwell DE (1991): Optical sectioning of microbial biofilms. *J Bacteriol* 173, 6558–6567
- Leach R: *Optical Measurement of Surface Topography*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 2011
- Lehmann RR: *Ökologie der Mundhöhle: Grundlagen der Vorsorge*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1991
- Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG (2000): Saliva and dental pellicle--a review. *Adv Dent Res* 14, 22–28
- Leung V, Dufour D, Lévesque CM (2015): Death and survival in *Streptococcus mutans*: differing outcomes of a quorum-sensing signaling peptide. *Front Microbiol* 6, 1176

- Li F, Chai ZG, Sun MN, Wang F, Ma S, Zhang L, Fang M, Chen JH (2009): Anti-biofilm effect of dental adhesive with cationic monomer. *J Dent Res* 88, 372–376
- Liljemark WF, Bloomquist CG, Reilly BE, Bernards CJ, Townsend DW, Pennock AT, LeMoine JL (1997): Growth dynamics in a natural biofilm and its impact on oral disease management. *Adv Dent Res* 11, 14–23
- Lima FG, Romano AR, Correa MB, Demarco FF (2009): Influence of microleakage, surface roughness and biofilm control on secondary caries formation around composite resin restorations: an in situ evaluation. *J Appl Oral Sci* 17, 61–65
- Limoli DH, Jones CJ, Wozniak DJ (2015): Bacterial Extracellular Polysaccharides in Biofilm Formation and Function. *Microbiol Spectr* 3, doi:10.1128/microbiolspec.MB-0011-2014
- Lin S, Chang H, Lin L, Huang P (1996): Measurement of dynamic/advancing/receding contact angle by video-enhanced sessile drop tensiometry. *Rev Sci Instrum* 67, 2852–2858
- Lindh L (2002): On the adsorption behaviour of saliva and purified salivary proteins at solid/liquid interfaces. *Swed Dent J Suppl* 152, 1–57
- Listgarten MA (1994): The structure of dental plaque. *Periodontol 2000* 5, 52–65
- Loesche WJ (1986): Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 50, 353–380
- Lorenzetti M, Dogša I, Stošički T, Stopar D, Kalin M, Kobe S, Novak S (2015): The influence of surface modification on bacterial adhesion to titanium-based substrates. *ACS Appl Mater Interfaces* 7, 1644–1651
- Madsen JS, Burmølle M, Hansen LH, Sørensen SJ (2012): The interconnection between biofilm formation and horizontal gene transfer. *FEMS Immunol Med Microbiol* 65, 183–195
- Maness P-C, Smolinski S, Blake DM, Huang Z, Wolfrum EJ, Jacoby WA (1999): Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO₂ Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism. *Appl Environ Microbiol* 65, 4094–4098
- Marmur A (1996): Equilibrium contact angles: theory and measurement. *Colloids Surf Physicochem Eng Asp* 116, 55–61
- Marsh PD, Bradshaw DJ (1995): Dental plaque as a biofilm. *J Ind Microbiol* 15, 169–175
- Marsh PD, Nyvad B (2009): The oral microflora and biofilms on teeth. In: Fejerskov O, Kidd E (Hrsg.): *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*. Blackwell Munksgaard, Oxford UK 2009, 163–188
- Marsh PD, Martin MV, Lewis MA, Williams D: *Oral Microbiology E-Book*. Elsevier Churchill Livingstone, London 2009
- Marshall NJ, Goodwin CJ, Holt SJ (1995): A critical assessment of the use of microculture tetrazolium assays to measure cell growth and function. *Growth Regul* 5, 69–84
- Matinlinna JP, Lassila LVJ, Ozcan M, Yli-Urpo A, Vallittu PK (2004): An introduction to silanes and their clinical applications in dentistry. *Int J Prosthodont* 17, 155–164
- Matsui R, Cvitkovitch D (2010): Acid tolerance mechanisms utilized by *Streptococcus mutans*. *Future Microbiol* 5, 403–417

- McDermid AS, McKee AS, Ellwood DC, Marsh PD (1986): The effect of lowering the pH on the composition and metabolism of a community of nine oral bacteria grown in a chemostat. *J Gen Microbiol* 132, 1205–1214
- Meckel AH (1965): The formation and properties of organic films on teeth. *Arch Oral Biol* 10, 585–598
- Meichsner G, Mezger TG, Schröder J: Lackeigenschaften messen und steuern: 2. überarbeitete Auflage. FARBE UND LACK 2016
- Meier R, Hauser-Gerspach I, Lüthy H, Meyer J (2008): Adhesion of oral streptococci to all-ceramics dental restorative materials in vitro. *J Mater Sci Mater Med* 19, 3249–3253
- Mergenhausen SE, Sandberg AL, Chassy BM, Brennan MJ, Yeung MK, Donkersloot JA, Cisar JO (1987): Molecular basis of bacterial adhesion in the oral cavity. *Rev Infect Dis* 9 Suppl 5, S467-474
- Mistry D, Stockley RA (2006): IgA1 protease. *Int J Biochem Cell Biol* 38, 1244–1248
- Mitrakul K, Vongsawan K, Sriutai A, Thosathan W (2016): Association between *S. mutans* and *S. sanguinis* in Severe Early childhood Caries and Caries-Free Children A Quantitative Real-Time PCR Analysis. *J Clin Pediatr Dent* 40, 281–289
- Mjör IA (1997): The reasons for replacement and the age of failed restorations in general dental practice. *Acta Odontol Scand* 55, 58–63
- Mollet H, Grubenmann A: Formulierungstechnik: Emulsionen, Suspensionen, Feste Formen. John Wiley & Sons, Weinheim 2009
- Monroe D (2007): Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms. *PLoS Biol* 5, e307
- Moraschini V, Fai CK, Alto RM, dos Santos GO (2015): Amalgam and resin composite longevity of posterior restorations: A systematic review and meta-analysis. *J Dent* 43, 1043–1050
- Morgan TD, Wilson M (2001): 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* 91, 47–53
- Mosmann T (1983): Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65, 55–63
- Müller A: Einfärben von Kunststoffen. Carl Hanser Verlag, München 2002
- Nakayama GR, Caton MC, Nova MP, Parandoosh Z (1997): Assessment of the Alamar Blue assay for cellular growth and viability in vitro. *J Immunol Methods* 204, 205–208
- Nardi T, Rtimi S, Pulgarin C, Letierrier Y (2015): Antibacterial surfaces based on functionally graded photocatalytic Fe₃O₄@TiO₂ core-shell nanoparticle/epoxy composites. *RSC Adv* 5, 105416–105421
- Neđzi-Góra M, Kowalski J, Górska R (2017): The Immune Response in Periodontal Tissues. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 65, 421–429
- Nisengard RJ, Newman MG: Oral microbiology and immunology. Saunders, Philadelphia 1994
- Nyvad B (1993): Microbial colonization of human tooth surfaces. *APMIS Suppl* 32, 1–45

- Nyvad B, Fejerskov O (1987): Scanning electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Scand J Dent Res* 95, 287–296
- O'Brien J, Wilson I, Orton T, Pognan F (2000): Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *Eur J Biochem* 267, 5421–5426
- Oguro R, Nakajima M, Seki N, Sadr A, Tagami J, Sumi Y (2016): The role of enamel thickness and refractive index on human tooth colour. *J Dent* 51, 36–44
- Ono M, Nikaido T, Ikeda M, Imai S, Hanada N, Tagami J, Matin K (2007): Surface properties of resin composite materials relative to biofilm formation. *Dent Mater J* 26, 613–622
- Opdam NJM, Bronkhorst EM, Loomans B a. C, Huysmans MCDNJM (2010): 12-year survival of composite vs. amalgam restorations. *J Dent Res* 89, 1063–1067
- O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R (2000): Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbiol* 54, 49–79
- Owens DK, Wendt RC (1969): Estimation of the surface free energy of polymers. *J Appl Polym Sci* 13, 1741–1747
- Özgünaltay G, Yazici AR, Görücü J (2003): Effect of finishing and polishing procedures on the surface roughness of new tooth-coloured restoratives. *J Oral Rehabil* 30, 218–224
- Paes Leme AF, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA (2006): The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation--new insight. *J Dent Res* 85, 878–887
- Palmer RJ, Gordon SM, Cisar JO, Kolenbrander PE (2003): Coaggregation-mediated interactions of streptococci and actinomyces detected in initial human dental plaque. *J Bacteriol* 185, 3400–3409
- Pandit S, Kim G-R, Lee M-H, Jeon J-G (2011): Evaluation of *Streptococcus mutans* biofilms formed on fluoride releasing and non fluoride releasing resin composites. *J Dent* 39, 780–787
- Paramonova E, Kalmykova OJ, van der Mei HC, Busscher HJ, Sharma PK (2009): Impact of hydrodynamics on oral biofilm strength. *J Dent Res* 88, 922–926
- Paravina RD (2009): Performance assessment of dental shade guides. *J Dent* 37 Suppl 1, e15-20
- Park J-B, Yang S-M, Ko Y (2015): Evaluation of the Surface Characteristics of Various Implant Abutment Materials Using Confocal Microscopy and White Light Interferometry. *Implant Dent* 24, 650–656
- Park JS, Ryu E-J, Li L, Choi B-K, Kim BM (2017): New bicyclic brominated furanones as potent autoinducer-2 quorum-sensing inhibitors against bacterial biofilm formation. *Eur J Med Chem* 137, 76–87
- Park JW, Song CW, Jung JH, Ahn SJ, Ferracane JL (2012): The effects of surface roughness of composite resin on biofilm formation of *Streptococcus mutans* in the presence of saliva. *Oper Dent* 37, 532–539
- Peifer T, Profos P: *Handbuch der industriellen Messtechnik*. 6., durchgesehene u. korr. Auflage; Oldenbourg Verlag, München Wien 1994
- Perera-Costa D, Bruque JM, González-Martín ML, Gómez-García AC, Vadillo-Rodríguez V (2014): Studying the influence of surface topography on bacterial adhesion using spatially

- organized microtopographic surface patterns. *Langmuir ACS J Surf Colloids* **30**, 4633–4641
- Petty RD, Sutherland LA, Hunter EM, Cree IA (1995): Comparison of MTT and ATP-based assays for the measurement of viable cell number. *J Biolumin Chemilumin* **10**, 29–34
- Peutzfeldt A (1997): Resin composites in dentistry: the monomer systems. *Eur J Oral Sci* **105**, 97–116
- Pinna R, Usai P, Filigheddu E, Garcia-Godoy F, Milia E (2017): The role of adhesive materials and oral biofilm in the failure of adhesive resin restorations. *Am J Dent* **30**, 285–292
- Pontoriero R, Tonelli MP, Carnevale G, Mombelli A, Nyman SR, Lang NP (1994): Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clin Oral Implants Res* **5**, 254–259
- Quirynen M, Bollen CML (1995a): The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. *J Clin Periodontol* **22**, 1–14
- Quivey RG, Kuhnert WL, Hahn K (2000): Adaptation of oral streptococci to low pH. *Adv Microb Physiol* **42**, 239–274
- Rabel W (1971): Einige Aspekte der Benetzungstheorie und ihre Anwendung auf die Untersuchung und Veränderung der Oberflächeneigenschaften von Polymeren. *Farbe Lack* **77**, 997–1006
- Rickard AH, Gilbert P, High NJ, Kolenbrander PE, Handley PS (2003): Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms. *Trends Microbiol* **11**, 94–100
- Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Duellman S, Benink HA, Worzella TJ, Minor L: *Cell Viability Assays*. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences, Indianapolis Maryland 2016
- Roda A: *Chemiluminescence and Bioluminescence: Past, Present and Future*. Royal Society of Chemistry, Cambridge 2011
- Romaní AM, Fund K, Artigas J, Schwartz T, Sabater S, Obst U (2008): Relevance of polymeric matrix enzymes during biofilm formation. *Microb Ecol* **56**, 427–436
- Rosan B, Lamont RJ (2000): Dental plaque formation. *Microbes Infect* **2**, 1599–1607
- Sainan Z, Li J, Lei Z, Liying H, Lu Y, Wei L (2016): [Influence of surface roughness on oral streptococcal adhesion forces to dental filling materials]. *West China J Stomatol* **34**, 448–453
- Sander M: *A Practical Guide to the Assessment of Surface Texture*. Mahr Feinprüf, Göttingen 1991
- Sarikaya I, Güler AU (2010): Effects of different polishing techniques on the surface roughness of dental porcelains. *J Appl Oral Sci* **18**, 10–16
- Schedle A, Franz A, Rausch-Fan X, Spittler A, Lucas T, Samorapoompichit P, Sperr W, Boltz-Nitulescu G (1998): Cytotoxic effects of dental composites, adhesive substances, compomers and cements. *Dent Mater* **14**, 429–440
- Scheie AA (1994): Mechanisms of dental plaque formation. *Adv Dent Res* **8**, 246–253
- Schiffner U: *Der Einfluß von Speichelproteinen auf die Demineralisation von Zahnschmelz: Untersuchungen in einer künstlichen Mundhöhle*. Carl Hanser Verlag, München 1997

- Schilling KM, Bowen WH (1988): The activity of glucosyltransferase adsorbed onto saliva-coated hydroxyapatite. *J Dent Res* 67, 2–8
- Schilling KM, Bowen WH (1992): Glucans synthesized in situ in experimental salivary pellicle function as specific binding sites for *Streptococcus mutans*. *Infect Immun* 60, 284–295
- Schmalz G (1998): The biocompatibility of non-amalgam dental filling materials. *Eur J Oral Sci* 106, 696–706
- Schmalz G, Arenholt-Bindslev D: *Biokompatibilität zahnärztlicher Werkstoffe*. Elsevier, Urban&FischerVerlag, München 2005
- Schmidseder J: *Ästhetische Zahnmedizin*. Georg Thieme Verlag 2008
- Schuth M, Buerakov W: *Handbuch Optische Messtechnik: Praktische Anwendungen für Entwicklung, Versuch, Fertigung und Qualitätssicherung*. Carl Hanser Verlag, München 2017
- Scudiero DA, Shoemaker RH, Paull KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, Currens MJ, Seniff D, Boyd MR (1988): Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res* 48, 4827–4833
- Senadheera D, Cvitkovitch DG (2008): Quorum sensing and biofilm formation by *Streptococcus mutans*. *Adv Exp Med Biol* 631, 178–188
- Shah PK, Stansbury JW (2007): Modified filler-matrix interfaces in polymeric composites used as dental restoratives. *Polym Prepr* 48
- Sheng J, Marquis RE (2006): Enhanced acid resistance of oral streptococci at lethal pH values associated with acid-tolerant catabolism and with ATP synthase activity. *FEMS Microbiol Lett* 262, 93–98
- Sheng J, Baldeck JD, Nguyen PTM, Quivey RG, Marquis RE (2010): Alkali production associated with malolactic fermentation by oral streptococci and protection against acid, oxidative, or starvation damage. *Can J Microbiol* 56, 539–547
- Silikas N, Kavvadia K, Eliades G, Watts D (2005): Surface characterization of modern resin composites: a multitechnique approach. *Am J Dent* 18, 95–100
- Sipahi C, Anil N, Bayramli E (2001): The effect of acquired salivary pellicle on the surface free energy and wettability of different denture base materials. *J Dent* 29, 197–204
- Siqueira WL, Custodio W, McDonald EE (2012): New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle. *J Dent Res* 91, 1110–1118
- Skjørland KK, Rykke M, Sønju T (1995): Rate of pellicle formation in vivo. *Acta Odontol Scand* 53, 358–362
- Slots J (1977a): The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. *Scand J Dent Res* 85, 114–121
- Slots J (1977b): Microflora in the healthy gingival sulcus in man. *Scand J Dent Res* 85, 247–254
- Sønju T, Rölla G (1973): Chemical analysis of the acquired pellicle formed in two hours on cleaned human teeth in vivo. Rate of formation and amino acid analysis. *Caries Res* 7, 30–38

- Spahl W, Budzikiewicz H, Geurtsen W (1998): Determination of leachable components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry. *J Dent* 26, 137–145
- Stanley PE (1989): A review of bioluminescent ATP techniques in rapid microbiology. *J Biolumin Chemilumin* 4, 375–380
- Steinberg D, Eyal S (2002): Early formation of *Streptococcus sobrinus* biofilm on various dental restorative materials. *J Dent* 30, 47–51
- Steinmetz I, Kocher T: Infektionen der Zähne und des Zahnhalteapparates. In: Suerbaum S, Hahn H, Burchard G-D, Kaufmann SHE, Schulz TF (Hrsg.): *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 7. Auflage; Springer, Berlin Heidelberg 2012, 876–881
- Stoodley P, Wilson S, Hall-Stoodley L, Boyle JD, Lappin-Scott HM, Costerton JW (2001): Growth and detachment of cell clusters from mature mixed-species biofilms. *Appl Environ Microbiol* 67, 5608–5613
- Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW (2002): Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 56, 187–209
- Sulong N, Rus AZM (2013): Influence of TiO₂ on Selfclean Bio Coating. *Appl Mech Mater* 315, 399–403
- Sumioka R, Nakata M, Okahashi N, Li Y, Wada S, Yamaguchi M, Sumitomo T, Hayashi M, Kawabata S (2017): *Streptococcus sanguinis* induces neutrophil cell death by production of hydrogen peroxide. *PloS One* 12, e0172223
- Sunada K, Kikuchi Y, Hashimoto K, Fujishima A (1998): Bactericidal and Detoxification Effects of TiO₂ Thin Film Photocatalysts. *Environ Sci Technol* 32, 726–728
- Tang L, Pillai S, Revsbech NP, Schramm A, Bischoff C, Meyer RL (2011): Biofilm retention on surfaces with variable roughness and hydrophobicity. *Biofouling* 27, 111–121
- Teughels W, Van Assche N, Sliopen I, Quirynen M (2006): Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res* 17 Suppl 2, 68–81
- Trautwein AX, Kreibitz U, Hüttermann J: *Physik für Mediziner, Biologen, Pharmazeuten*. Walter de Gruyter, Berlin 2014
- Tschernin M: *Oberflächeneigenschaften von Zahnrestaurationsmaterialien*. Med. Diss. München 2003
- Uehara Y, Agematsu K, Kikuchi K, Matsuzaki S, Imai S, Takamoto M, Sugane K, Sugiura T, Konishi Y, Yoshino N, et al. (2006): Secretory IgA, salivary peroxidase, and catalase-mediated microbicidal activity during hydrogen peroxide catabolism in viridans streptococci: pathogen coaggregation. *J Infect Dis* 194, 98–107
- Uyama Y, Inoue H, Ito K, Kishida A, Ikada Y (1991): Comparison of different methods for contact angle measurement. *J Colloid Interface Sci* 141, 275–279
- Vacca Smith AM, Bowen WH (2000): In situ studies of pellicle formation on hydroxyapatite discs. *Arch Oral Biol* 45, 277–291
- Vacca Smith AM, Ng-Evans L, Wunder D, Bowen WH (2000): Studies concerning the glucosyltransferase of *Streptococcus sanguis*. *Caries Res* 34, 295–302

- van de Sande FH (2016): [A PhD completed 5. Restoration survival in the composite resin age]. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 123, 429–431
- van Loosdrecht MC, Lyklema J, Norde W, Schraa G, Zehnder AJ (1987): The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. *Appl Environ Microbiol* 53, 1893–1897
- Vickerman MM, Jones GW (1995): Sucrose-dependent accumulation of oral streptococci and their adhesion-defective mutants on saliva-coated hydroxyapatite. *Oral Microbiol Immunol* 10, 175–182
- Vickerman MM, Clewell DB, Jones GW (1991): Sucrose-promoted accumulation of growing glucosyltransferase variants of *Streptococcus gordonii* on hydroxyapatite surfaces. *Infect Immun* 59, 3523–3530
- Vita: Skalen zur Bestimmung der Zahnfarbe: VITA classical und VITA Toothguide 3D Master. VITA Zahnfabrik, H. Rauter GmbH & Co KG, <https://www.vita-zahnfabrik.com> 2017
- Voytik-Harbin SL, Brightman AO, Waisner B, Lamar CH, Badylak SF (1998): Application and evaluation of the alamarblue assay for cell growth and survival of fibroblasts. *Vitro Cell Dev Biol - Anim* 34, 239–246
- Wassmann T, Kreis S, Behr M, Bueggers R (2017): The influence of surface texture and wettability on initial bacterial adhesion on titanium and zirconium oxide dental implants. *Int J Implant Dent* 3, 32
- Wessel SW, Chen Y, Maitra A, van den Heuvel ER, Slomp AM, Busscher HJ, van der Mei HC (2014): Adhesion forces and composition of planktonic and adhering oral microbiomes. *J Dent Res* 93, 84–88
- Whitehead KA, Verran J (2006): The Effect of Surface Topography on the Retention of Microorganisms. *Food Bioprod Process* 84, 253–259
- Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE (1996): Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu Rev Microbiol* 50, 513–552
- Wilson V (2013): An insight into peri-implantitis: a systematic literature review. *Prim Dent J* 2, 69–73
- Wimpenny JWT (1997): The Validity of Models. *Adv Dent Res* 11, 150–159
- Wink M: *Molekulare Biotechnologie: Konzepte, Methoden und Anwendungen*. John Wiley & Sons, Weinheim 2011
- Wolf HF, Rateitschak EM, Rateitschak KH: *Parodontologie*. 3., vollst. überarb. u. erw. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2004
- Yap, Sau, Lye (1998): Effects of finishing/polishing time on surface characteristics of tooth-coloured restoratives. *J Oral Rehabil* 25, 456–461
- Yoshida A, Ansai T, Takehara T, Kuramitsu HK (2005): LuxS-based signaling affects *Streptococcus mutans* biofilm formation. *Appl Environ Microbiol* 71, 2372–2380
- Yuan C, Wang X, Gao X, Chen F, Liang X, Li D (2016): Effects of surface properties of polymer-based restorative materials on early adhesion of *Streptococcus mutans* in vitro. *J Dent* 54, 33–40
- Yuan Y, Lee TR: Contact Angle and Wetting Properties. In: Bracco G, Holst B (Hrsg.): *Surface Science Techniques*; Springer, Berlin, Heidelberg 2013, 3–34

- Zahradnik RT, Moreno EC, Burke EJ (1976): Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro. *J Dent Res* 55, 664–670
- Zane A, Zuo R, Villamena FA, Rockenbauer A, Digeorge Foushee AM, Flores K, Dutta PK, Nagy A (2016): Biocompatibility and antibacterial activity of nitrogen-doped titanium dioxide nanoparticles for use in dental resin formulations. *Int J Nanomedicine* 11, 6459–6470
- Zhang K, Ou M, Wang W, Ling J (2009): Effects of quorum sensing on cell viability in *Streptococcus mutans* biofilm formation. *Biochem Biophys Res Commun* 379, 933–938
- Zhang N, Ma J, Melo MAS, Weir MD, Bai Y, Xu HHK (2015): Protein-repellent and antibacterial dental composite to inhibit biofilms and caries. *J Dent* 43, 225–234
- Zhang X, Jin M, Liu Z, Nishimoto S, Saito H, Murakami T, Fujishima A (2006): Preparation and Photocatalytic Wettability Conversion of TiO₂-Based Superhydrophobic Surfaces. *Langmuir* 22, 9477–9479
- Zheng L, Itzek A, Chen Z, Kreth J (2011): Oxygen dependent pyruvate oxidase expression and production in *Streptococcus sanguinis*. *Int J Oral Sci* 3, 82–89

Danksagung

Herrn Prof. Dr. R. Bürgers möchte ich ganz herzlich für die freundliche Überlassung des Themas und die wertvolle und geduldige Betreuung danken. Der hilfreiche Rat und die konstruktive Kritik meines Doktorvaters haben die Erstellung der vorliegenden Dissertation erst ermöglicht.

Herrn Oberarzt Dr. T. Wassmann, dem Leiter des biochemischen Labors der Poliklinik für Zahnärztliche Prothetik möchte ich sehr für die Unterstützung bei der Planung und Organisation der dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungen sowie die Unterstützung in organisatorischen Fragen danken. Desweiteren danke ich Herrn Dr. Wassmann für die freundschaftliche Hilfe bei vielen Fragen, die er bereitwillig jederzeit beantwortete.

Frau S. Kiecke möchte ich herzlichst für ihren Rat und die Unterstützung beim Erlernen der Untersuchungstechniken und der Durchführung der biochemischen Versuche danken.

Den Mitarbeitern der Poliklinik für Zahnärztliche Prothetik, insbesondere Herrn ZA O. Kurbad, danke ich für die kollegiale und freundschaftliche Unterstützung, die mir die Durchführung dieser Arbeit ermöglichte.

Ganz besonderer Dank gilt Frau Oberärztin Dr. J. Laugisch, die mich in freundschaftlicher Art und Weise immer wieder mit motivierenden, aufbauenden Worten unterstützte.