Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie
Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Untersuchung der Plaqueretention auf verschiedenen dentalen Kompositmaterialien: eine mikrobiologische *in vitro* Studie

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades in Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Katharina Susanna Elisabeth Feldner
aus Graz

2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. dent. Karin Christine Huth MME
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. rer. nat. Franz-Xaver Reichl
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. med. dent. Maximilian Kollmuß
Dekan:	Prof. Dr. med. Thomas Gudermann
Tag der mündlichen Prüfung:	21.02.2022

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 6

1.1 Pathomechanismen oraler Erkrankungen 7

1.1.1 Definition und Ätiologie von kariösen Läsionen 7

1.1.2 Definition und Ätiologie von Parodontopathien 9

1.2 Mikrobielle Plaque 12

1.2.1 Plaqueentstehung 12

1.2.2 Organisation der Bakterien als Plaque 19

1.2.3 Eigenschaften der Plaque 20

1.2.4 Endphase der Biofilmentwicklung 21

1.3 Eigenschaften von dentalen Werkstoffen und deren Einfluss auf die Akkumulation von Biofilmen auf deren Oberflächen 22

1.3.1 Oberflächenenergie 22

1.3.2 Oberflächenrauheit 25

1.3.3 Topographie 27

1.3.4 Oberflächenladung 28

1.3.5 E-Modul 30

1.3.6 Chemische Zusammensetzung 31

1.4 Interaktionen zwischen Oberflächen und der aufliegenden Plaque .. 32

2 Fragestellung und Studienziele 37

3 Material und Methode 38

3.1 Herstellung der Probenkörper 38

3.2 Mikrobiologische Arbeitsschritte 42

3.2.1 Bakterienstämme 42

3.2.2 Kultivierung der Bakterien 43

3.2.3 Stammhaltung 44

3.2.4 Reinigung der Probenkörper 44

3.2.5 Anzucht des Biofilms 45

3.2.6 Verdünnen und Ausplattieren des Biofilms 46

3.2.7 Quantifizierung der Bakterienlast 48

3.2.8 Statistische Auswertung 49

4 Ergebnisse 50

4.1 *Streptococcus mutans* 50

4.2 *Actinomyces naeslundii* 51

4.3 *Veillonella parvula* 52

4.4 Unterschiede der bakteriellen Adhäsion von drei verschiedenen Bakterienstämmen zu dem jeweils gleichen Material 53

5 Diskussion 55

6 Zusammenfassung 70

7 Literaturverzeichnis 72

8 Abbildungsverzeichnis 84

9 Tabellenverzeichnis 84

10 Abkürzungsverzeichnis 85

11 Rezepte 86

12 Danksagung 87

1 Einleitung

In einer Zeit, in der immer mehr Wert auf Mundhygiene, Aufklärung und Prophylaxe gelegt wird, ist die Prävalenz für orale Erkrankungen noch immer erstaunlich hoch. Hierbei stellen kariöse Läsionen das vorherrschende Problem dar (Kassebaum *et al.*, 2017). Somit ist die Behandlung durch Entfernen der Karies und Legen einer Füllung einem signifikanten Teil der zahnärztlichen Tätigkeit. Neben dem Gebrauch von Amalgam wurde in den letzten Jahren die Verwendung von Kompositwekstoffen immer beliebter (Eltahlah *et al.*, 2018). Die Nachfrage nach solchen Kompositen, resultierte in einem stetig steigenden Angebot neuer Produkte auf dem Markt. Dieser schnelle Wandel setzt eine konstante Investition in die Forschung und Entwicklung dieser Materialien voraus (Ferracane, 2011).

Die Behandlung ist jedoch oft nicht mit dem Legen einer einzigen Füllung beendet. Über längere Zeit hinweg leidet die Suffizienz einer Füllung und benötigt häufig weitere zahnärztliche Eingriffe. Der häufigste Grund für weitere Interventionen ist die Sekundärkaries (Eltahlah *et al.*, 2018). Neben einer Vielzahl an Faktoren, wurde die Akkumulation eines Biofilms an und um Restaurationen, als einer der zentralen Gründe gesehen, welche zum Versagen einer solchen Restauration führen kann (Barbosa *et al.*, 2012). Zusätzlich kann die Anwesenheit von Plaque auf Restaurationen nahe der Gingiva zu Gewebeirritationen führen, mit der möglichen Folge einer gingivalen Erkrankung (Steinberg und Eyal, 2002). Forschungen der letzten Jahre haben immer wieder hervorgehoben, dass sowohl die Adhäsion von Bakterien an Oberflächen als auch die Biofilmformation, maßgeblich von zwei Faktoren beeinflusst werden: einerseits durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften des unterliegenden Substrats - zum Beispiel ein Komposit - und andererseits durch die passiven und aktiven Adhäsionsmechanismen der Bakterien selbst (Hannig und Hannig, 2009; Khalichi *et al.*, 2009; Mei *et al.*, 2011; Quirynen, 1994).

Das Ziel dieser Studie ist das Hervorheben möglicher Unterschiede in der Plaqueretention von drei verschiedenen Bakterienspezies auf sechs Kompositen und einem Compomer. Anhand der akkumulierten Plaquemenge sollen Unterschiede zwischen den drei Bakterienstämmen und der insgesamt sieben verschiedenen Materialien veranschaulicht werden.

1.1 Pathomechanismen oraler Erkrankungen

Die Mundhöhle präsentiert sich als ein vielseitiges Milieu für Mikroorganismen. Innerhalb kürzester Zeit kann es zu Temperaturschwankungen von ≈0 °C bis ≈70 °C kommen und auch das Nährstoffangebot wechselt periodisch. Zusätzlich können komplexe Scherkräfte, durch Nahrungsaufnahme und Hygienemaßnahmen auftreten (Barclay *et al.*, 2005; Lin, 2017). Die Mundhöhle bietet einen Lebensraum für mehr als 700 verschiedene Bakterienarten (Darrene und Cecile, 2016). Trotz der weit verbreiteten Annahme, dass Bakterien schädlich für den menschlichen Körper seien, ist die Bakterienbesiedlung ein wesentlicher und natürlicher Bestandteil der Mundhöhle, welche maßgeblich zu einem gesunden und ausgewogenen System beiträgt (Kumar und Mason, 2015). Pathologische Veränderungen, in Form von Karies oder Parodontitis, entstehen erst durch eine Veränderung der bakteriellen Zusammensetzung und ein Ungleichgewicht der natürlich vorkommenden Bakterien, zugunsten pathogener Mikroorganismen (Darrene und Cecile, 2016).

1.1.1 Definition und Ätiologie von kariösen Läsionen

Karies stellt die häufigste Erkrankung in der Mundhöhle dar (Eltahlah *et al.*, 2018). Es handelt sich dabei um eine chronische Infektionskrankheit und resultiert aus der Demineralisation der Zahnhartsubstanz durch Einwirken von Säuren (van Houte, 1994).

Dieser Prozess beinhaltet vier Grundvoraussetzungen: einen Wirtsorganismus, Mikroorganismen, Substrat für die Mikroorganismen und Zeit. Daneben gibt es weitere Faktoren die beachtet werden müssen: die Beschaffenheit und Eigenschaften der Oberfläche, die Zusammensetzung des Speichels und die individuelle Abwehrlage das Wirtsorganismus (König, 1987).

Wie oben bereits erwähnt, ist die Bakterienbesiedlung der Mundhöhle durchaus ein normaler Zustand. Dentale Karies resultiert erst aus einem ökologischen Ungleichgewicht der eigentlich physiologischen Verhältnisse (Selwitz *et al.*, 2007). Dies geschieht durch begünstigende Faktoren für die Mikroorganismen, wie etwa ein Überangebot von Kohlehydraten (König, 1987). So werden orale Oberflächen

mikrobiell kolonisiert und ein bakterieller Biofilm – auch dentale Plaque genannt – kann sich entwickeln (Bowen *et al.*, 2018). Durch das natürliche Verstoffwechseln von Kohlehydraten durch diese Bakterien, entstehen schwache Säuren als Nebenprodukte. Diese führen zu einem lokalen Abfall des pH-Wertes. Daraus folgt die Demineralisation der Zahnhartsubstanz, wobei Calcium, Phosphat und Carbonat aus dieser herausdiffundieren (Selwitz *et al.*, 2007). Anfangs ist diese Demineralisation noch reversibel und die Zahnhartsubstanz kann durchaus wieder remineralisiert werden. Dies geschieht durch Komponenten aus dem Speichel, wie Calcium, Phosphate und Fluoride. Dieser dynamische Prozess der De- und Remineralisation findet genau genommen mehrmals täglich statt. Erst durch eine länger anhaltende Demineralisation kann es zu einer Läsion der Zahnhartsubstanz kommen: von Demineralisation auf molekularer Ebene bis hin zur klinisch sichtbaren Kavitation (Featherstone, 2004). Bakterien dringen bis zur Schmelz-Dentin-Grenze vor und eine massive Infiltration des Dentins mit Bakterien ist möglich (Lehmann und Hellwig, 2005). Bereits beim Übertritt der Bakterien ins Dentin treten die ersten Entzündungszeichen in der Pulpa auf (Baumann *et al.*, 2007). Im Dentin kann sich die Läsion rasch unterminierend ausbreiten. Dies ist bedingt durch die Struktur des Dentins, in Form von anorganischen Kollagenfasern in Dentinkanälchen (Schroeder, 1991). Weiterhin wird die Ausbreitung erleichtert durch die proteolytische Aktivität der Kollagenasen in Bakterien wie *Streptococcus mutans* (Jackson *et al.*, 1997). Durch eine langanhaltende Entzündung oder die Besiedlung der Pulpa mit Bakterien, kommt es zu Gewebezerstörung bis hin zur Nekrose der Pulpa (Hellwig *et al.*, 2010). Ab einem gewissen Schweregrad und Fortschritt einer kariösen Läsion, kann dieser nur mehr durch invasive Therapiemaßnahmen Einhalt geboten werden. Somit kann die weitere bakterielle Ausbreitung lediglich mittels Füllungstherapie oder einer Wurzelkanalbehandlung unterbunden werden (Ricketts *et al.*, 2013). *Abbildung 1* zeigt ein klinisches Beispiel von einer Kompositfüllung.

Abbildung 1: Klinisches Beispiel von Kompositfüllungen

1.1.2 Definition und Ätiologie von Parodontopathien

Neben den Läsionen der Zahnhartsubstanz, ist die Prävalenz von Parodontopathien in Deutschland noch immer hoch (Holtfreter *et al.*, 2010). Laut der Fünften Deutschen Mundgesundheitsstudie kann im Vergleich zur Vierten Deutschen Mundgesundheitsstudie zwar eine abnehmende Prävalenz für parodontale Erkrankungen verzeichnet werden, aber dennoch wird ein vermehrter parodontaler Behandlungsbedarf prognostiziert (Cholmakow-Bodechtel *et al., 2016)*. Zurückzuführen ist dies auf den demografischen Wandels der deutschen Bevölkerung (Cholmakow-Bodechtel *et al.*, 2016).

Parodontopathien beschreiben eine Reihe chronisch entzündlicher Konditionen der Gingiva, des Knochens und der Ligamente, welche den Zahn im Alveolarfortsatz verankern (Kinane *et al.*, 2017). Die Plaque-induzierte Gingivitis und die Parodontitis weisen dabei die höchste Prävalenz in dieser Gruppe auf (Tatakis und Kumar, 2005).

Gingivitis, eine reversible entzündliche Reaktion der marginalen Gingiva, wird allen voran mit der Anwesenheit von dentaler Plaque in Verbindung gebracht (Chapple *et al.*, 2018; Hellwig *et al.*, 2010). Auslöser dafür können eine Dysbiose oder eine Überreaktion des Immunsystem des Wirts auf die mikrobielle Anwesenheit sein (Kinane *et al.*, 2017): Die akkumulierte dentale Plaque hat das Potential direkten Schaden an dem parodontalem Gewebe auszuüben (Chapple *et al.*, 2018). Dies wird begünstigt durch einen Wandel der mikrobiellen Zusammensetzung des Biofilms, weg von einer gram-positiven und Streptokokken-lastigen Flora, hin zu einem wesentlich komplexeren und gram-negativen Biofilm (Page, 1986). Jedoch können auch indirekte Mechanismen, welche abhängig von der Initiation und Verbreitung der entzündlichen Reaktionen im Gewebe des Wirtsorganismus selbst, zu Schaden führen (Tatakis und Kumar, 2005). Durch eine Vielfalt von bakteriellen Stoffwechselprodukten - Zytotoxine, Chemotaxine, Kollagenasen, Endotoxine, Antigene - provoziert die langfristig bestehende supra- und später subgingivale Plaque eine vermehrte Exsudation von Sulkusflüssigkeit und Migration von Abwehrzellen, vor allem von neutrophilen Granulozyten (Schroeder, 1991). In weiterer Folge besteht die Möglichkeit des Auflockerns des Saumepithels innerhalb der Zahnfleischtasche und Bakterien können leichter zwischen Zahn und Epithel ins Gewebe eindringen (Wolf *et al.*, 2012). Um die Läsion ist ein variabel großes Infiltrat, welches mit längerem Bestehen immer mehr T-Lymphozyten, später auch B-Lymphozyten, NK-Zellen und Makrophagen aufweist (Page, 1986). Ein solcher *etablierter* Läsionstyp einer Gingivitis kann über Jahre hinweg unverändert bestehen bleiben, ohne sich zu verschlechtern, oder sich zu einem aktiven und destruktiven Krankheitsbild zu entwickeln (Schroeder, 1991).

Die möglichen Folgen einer sich verschlechternden parodontalen Erkrankung können sich als episodisch auftretenden Entzündungen mit Destruktion des bindegewebigen Attachments bis hin zu einem Substanzverlust des Parodontiums (alveolarer Knochenverlust) darstellen (Page, 1986). Klinische Beispiele dieser Parodontopathien werden in *Abbildung 2* und *Abbildung 3* gezeigt.

Abbildung 2: Klinisches Bild einer plaqueinduzierten Gingivitis

Abbildung 3: Klinisches Bild einer Parodontitis

Obwohl anfänglich davon ausgegangen wurde, dass Parodontopathien maßgeblich mit der Plaquemenge zusammenhängen (*unspezifische Plaquehypothese*), wurde dieser Ansatz mittlerweile verworfen. Heute geht man davon aus, dass vor allem die mikrobielle Zusammensetzung und die Anwesenheit von bestimmten Spezies in der Plaque eine große Rolle in der Entstehung von Parodontopathien spielen (*spezifische Plaquehypothese*) (Tatakis und Kumar, 2005). Ebenso entscheidend für den Verlauf einer Parodontopathie ist das Immunsystem des Wirts. Die Immunantwort stellt sich als komplexe Interaktion zwischen Abwehrzellen und den Elementen der parodontalen Strukturen dar. Sie determiniert, ob die Reaktion auf eine bestehende Plaqueakkumulation in einer marginalen Entzündung (Gingivitis) oder einer Destruktion des dentalen Halteapparates (Parodontitis) resultiert (Tatakis und Kumar, 2005). Generell ist jedoch zu bemerken, dass Gingivitis ein großer Risikofaktor und eine Grundvoraussetzung für Parodontitis ist (Chapple *et al.*, 2018).

1.2 Mikrobielle Plaque

Plaque oder Biofilm bezeichnet eine organisierte Struktur auf einer festen Oberfläche, bestehend aus einer extrazellulären Matrix, in welche bakterielle Gemeinschaften eingebettet sind (Bowen *et al.*, 2018). Sie stellt den Anfangspunkt der Kariesentstehung und weiterer oraler Erkrankungen wie Gingivitis und Parodontitis dar (Tatakis und Kumar, 2005; Wolf *et al.*, 2012).

1.2.1 Plaqueentstehung

Die Entstehung einer reifen Plaque benötigt Zeit und Ressourcen und ist ein mehrstufiger Kreislauf (Lin, 2017). Feste Oberflächen in der Mundhöhle werden innerhalb von Sekunden von einer Pellikel überzogen. Die Pellikel ist ein dünner Film, der durch selektive Adsorption von Speichelkomponenten wie Proteinen, Kohlehydraten und Lipiden entsteht. Auf der Zahnoberfläche leiten Speichelproteine mit einer hohen Affinität zu Hydroxylapatit diesen Prozess, durch elektrostatische Interaktion mit der Oberfläche, ein. Histamin und Statherin zählen zu den ersten Proteinen, die adsorbiert werden (Jensen *et al.*, 1992). An der Schmelzoberfläche

wird diese selektive Adsorption durch Kalziumionen und einer Phosphatschicht initiiert. Auf Grund diesen Wissens, kann auch bei restaurativen Materialien von einer oberflächenspezifischen Proteinadsorption ausgegangen werden (Hannig und Hannig, 2009). Nach einigen Minuten erweitern sich die Bestandteile der Pellikel und sie beinhaltet Muzine, Amylasen, Lysozyme und Lactoferrine um nur einige Beispiele zu nennen (Vacca Smith und Bowen, 2000). Dabei sollte auch betont werden, dass sich die Eigenschaften der Pellikel - adsorbierte Menge, Formationsrate, Viskoelastizität, Säureresistenz und mechanische Stabilität - je nach Unterlage verändern (Aroonsang *et al.*, 2014). So werden die Eigenschaften des unterliegenden Materials durch die Pellikel weitergeleitet und haben Einfluss auf die bakterielle Adhäsion (Teughels *et al.*, 2006). Ebenso verändert die Pellikel die physiochemischen Eigenschaften der Oberfläche, auf welcher sie sich bildet (Carpentier und Cerf, 1993).

Einerseits spielt die Pellikel eine wichtige Rolle bei der Erhaltung der Integrität des Zahnes: auf Grund der semipermeablen Eigenschaften wird die Diffusion von Säuren erschwert, gleichzeitig jedoch die Diffusion von Fluoriden, Calcium und Phosphaten begünstigt. So kann unter anderem die Re- und Demineralisation des Zahns und der Feuchtigkeitshaushalt beeinflusst werden (Siqueira *et al.*, 2012; Zahradnik *et al.*, 1977). Andererseits trägt die Pellikel aber auch maßgeblich zur Adhäsion von Bakterien an die unterliegenden Oberflächen bei. Komponenten, wie Amylasen, prolinreiche Proteine, Muzin MG 2 und Fribrinogen, fungieren als spezifische Rezeptoren für Bakterien (Hannig und Hannig, 2009).

Bis heute kann die Adhäsion von Bakterien an feste Oberflächen in wässrigen Milieus noch immer nicht in all ihren Einzelheiten und ihrer Komplexität dargestellt werden (Bos *et al.*, 1999; Busscher *et al.*, 2010). Heutiger Wissensstand ist ein Konzept mit vier Stufen, welche im Folgenden genauer erläutert werden (Teughels *et al.*, 2006).

1. Transport zu der Oberfläche

   Bakterien gelangen auf unterschiedlichste Weise in die unmittelbare Nähe einer Pellikel: durch die Brownsche Molekularbewegung, Sedimentation, mit dem Flüssigkeitsstrom oder durch aktive Bewegung (Palmer *et al.*, 2007).

2. Initiale Adhäsion

Das Stadium der initialen Adhäsion resultiert in einer schwachen und reversiblen Adhäsion des Bakteriums, durch Interaktion mit der Oberfläche ab einem bestimmten Abstand (50 nm) (Quirynen und Bollen, 1995). Für diese physiochemische Interaktion gibt es zwei Annäherungen:

Der ***thermodynamische Ansatz*** basiert auf den Oberflächenenergien (Surface Free Energy oder SFE) der beteiligten Oberflächen, vernachlässigt jedoch die Rolle der elektrostatischen und biochemischen Interaktionen. Man geht davon aus, dass für einen direkten Kontakt, der Wasserfilm zwischen Bakterium und Oberfläche entfernt werden muss. Dies wird in *Abbildung 4* dargestellt. Dabei kann die freie Energie der Adhäsion ΔG_{adh} berechnet werden, wenn man davon ausgeht, dass die Grenzfläche zwischen Bakterium/Flüssigkeit (ml) und Oberfläche/Flüssigkeit (sl) ersetzt wird durch die Oberfläche/Bakterium (sm) Grenzfläche (Teughels *et al.*, 2006). Mathematisch stellt sich dies mit folgender Formel dar:

$$\Delta G_{adh} = \gamma_{sm} - \gamma_{sl} - \gamma_{ml}$$

(Absolom *et al.*, 1983; Bellon-Fontaine *et al.*, 1990). Dabei wird jeweils die freie Energie der Grenzflächen zwischen den interagierenden Oberflächen betrachtet (Bos *et al.*, 1999). Mit dieser Formel und der SFE der drei beteiligten Komponenten kann man Vorhersagen treffen in welche Richtung dieser Prozess ablaufen wird: je negativer ΔG_{adh}, desto eher kann man davon ausgehen dass eine Adhäsion stattfinden wird (Absolom *et al.*, 1983).

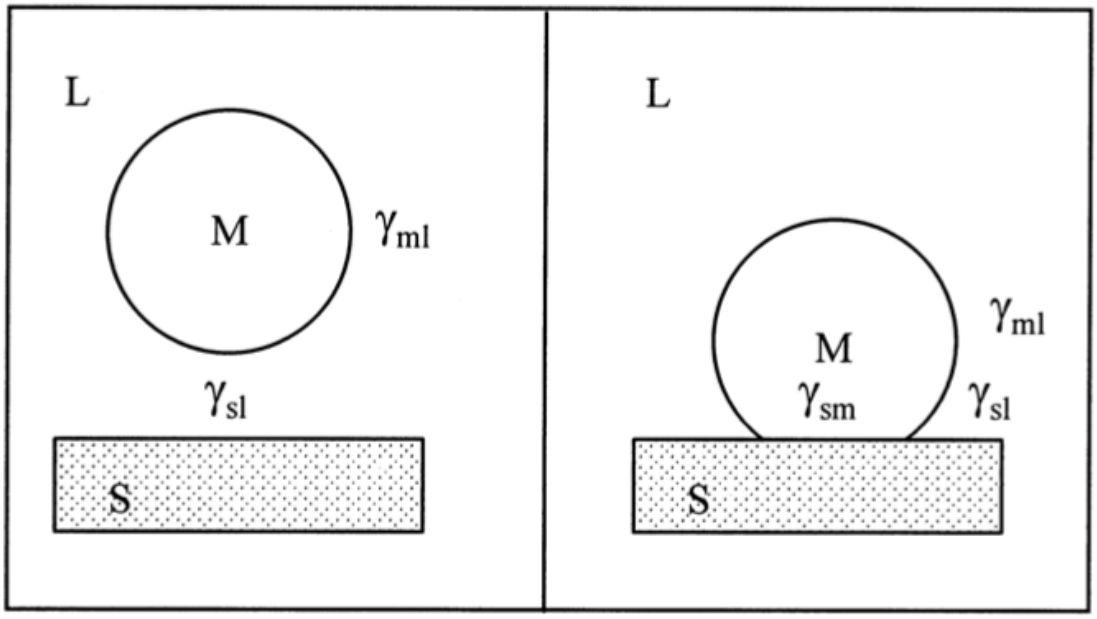

Abbildung 4: Interaktion zwischen Bakterium und Substrat im Sinne des thermodynamischen Ansatzes (Bos et al., 1999).
Schematische Darstellung der involvierten Oberflächenenergien (γsm, γsl, γml) in der Adhäsion von einem Mikroorganismus (M) zu einer Substratoberfläche (S) innerhalb einer flüssigen Suspension (L).

Der ***DLVO Ansatz*** (benannt nach Derjaguin, Landau, Verweij und Overbeek) betrachtet die Adhäsion von Bakterien zu einer Oberfläche als eine Balance zwischen anziehenden Lifschitz- van der Waals Kräften (G_A: wirken bereits ab 50 nm Abstand) und den abstoßenden elektrostatischen Kräften (G_E: wirken erst bei kleinerem räumlichen Abstand) und deren Verlauf mit zunehmenden Abstand (Bos *et al.*, 1999). Die letztere der beiden Kräfte entsteht in Flüssigkeiten: wegen der negativ geladenen Oberfläche des Bakteriums und des Substrats (hervorgerufen durch die Auflagerung der Pellikel), bildet sich eine Schicht mit der entgegengesetzten Ladung und breitet sich um die besagten Oberflächen aus (Stern-Doppelschicht). Nachdem beide Oberflächen die gleiche Ladung aufweisen, wird die elektrostatische Kraft naturgemäß abstoßend sein (Hannig und Hannig, 2009; Teughels *et al.*, 2006). Sobald diese beiden Doppelschichten miteinander überlappen, treten elektrostatische Kräfte auf. Die Distanz, ab welcher diese Interaktion stattfindet, hängt von der Dicke der Doppelschichten ab, welche wiederum abhängig ist von der ionischen Ladung der Oberfläche und der ionischen Konzentration der umgebenden Suspension. Bei einer großen ionischen Kraft

sind die Doppelschichten klein und das Bakterium muss näher an die Oberfläche, bevor eine elektrostatische Interaktion stattfindet (Quirynen und Bollen, 1995).

Nach dem DLVO Ansatz wird postuliert: bei einem Abstand der größer ist als 1 nm, ergibt die Summe der beiden oben genannten Energien, die Interaktion zwischen Bakterium und Oberfläche (auch totale Gibbs Energie G_{TOT} genannt) (Quirynen und Bollen, 1995):

$$G_{TOT} = G_A + G_F$$

Betrachtet man die totale Gibbs Energie im Verlauf des Abstandes zwischen Bakterium und Oberfläche, weisen die meisten Bakterien im Speichel - eine Suspension mit mittelstarker ionischer Kraft - einen typischen Verlauf auf. Dieser Verlauf wird in *Abbildung 5* veranschaulicht. Ab einem Abstand von 5-20 nm findet eine reversible Adhäsion statt (Secondary Minimum) und nach dem Überwinden einer Barriere (B) durch abstoßende Kräfte, kommt es zur irreversiblen Adhäsion (Primary Minimum) ab einer Distanz von < 2 nm (Quirynen und Bollen, 1995; Teughels *et al.*, 2006).

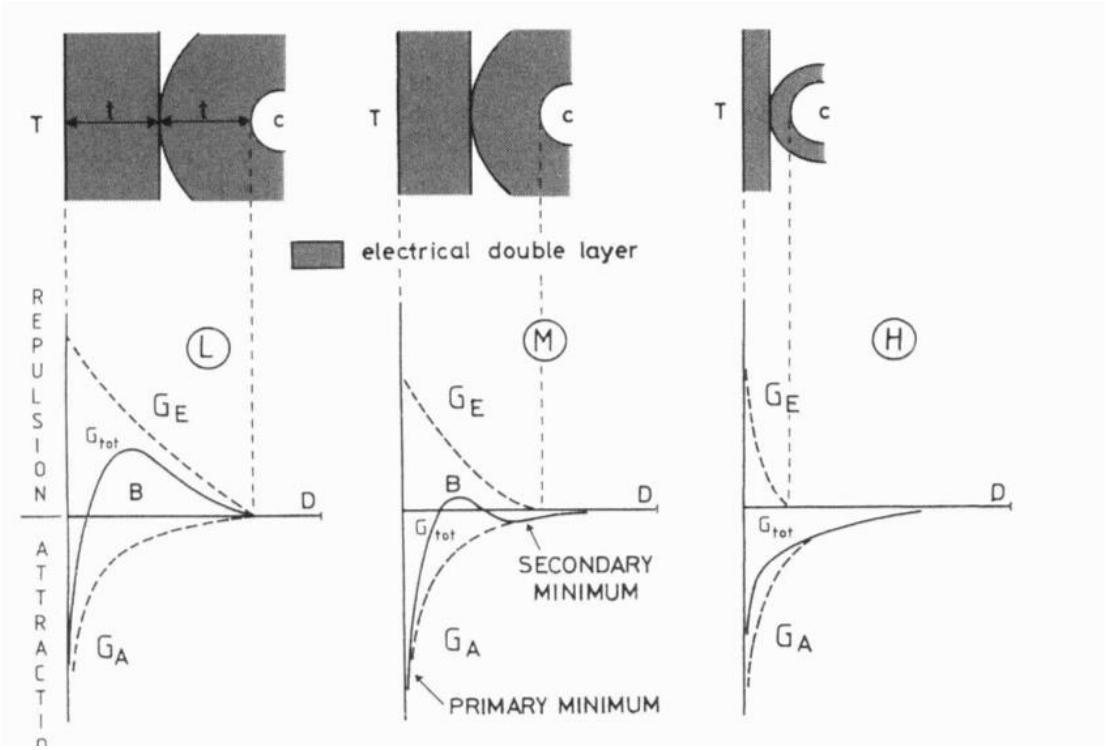

Abbildung 5: Interaktion zwischen Oberfläche und Bakterium im Sinne des DLVO Ansatzes (Quirynen & Bollen, 1995).
Interaktion zwischen einer negativ geladenen Oberfläche (T) und einem negativ geladenen Bakterium (c) nach dem DLVO Ansatz. Die Gibbs Energie (G_{TOT}) wird in Relation zum Abstand aus der Summation der van der Waals Kräfte (G_A) und die elektrostatischen Kräfte (G_E) errechnet. In dieser Abbildung wurden Suspensionen mit drei verschiedenen ionischen Kräften dargestellt: (L) niedrig, (M) mittel und (H) hoch. Elektrostatische Interaktionen treten erst bei einer Überlappung der Doppelschichten auf (t: Dicke der Stern-Doppelschichten).

Der *extendierte DLVO Ansatz* (XDLVO) etabliert von van Oss und Mitarbeitern (1987) hat noch weitere Variablen eingefasst und betrachtete die bakterielle Adhäsion mit Hilfe von vier Kräften: Lifshitz-van der Waals, elektrostatische Kräfte, Säure-Base-Reaktionen und Brownsche Molekularbewegung (van Oss *et al.*, 1987).

3. Adhäsion

Nach dem initialen Kontakt kann die Bindung zur Oberfläche durch die Produktion von Exopolysacchariden (Adhäsine), welche mit Bestandteilen der Oberfläche komplexieren, und/oder durch rezeptorspezifischen Liganden auf Pilli und Fibrillen, verfestigt werden. Diese Adhäsion kann abhängig vom Organismus und der Umgebung teils nur von einzelnen bestimmten Adhäsinen vermittelt werden (Dunne, 2002). Streptokokken und Actinomyceten, die frühen Kolonisatoren, binden ganz bestimmte Speichelmoleküle. Besonders *Streptococcus sanguis* bindet an saure prolinreiche Proteine und Rezeptoren, wie die α-Amylase und Salinsäure in der Pellikel.

Dabei spielt die mikrobielle Erkennung von Rezeptoren auf der konditionierten Oberfläche eine beträchtliche Rolle (Whittaker *et al.*, 1996). Diese ist teils so spezifisch, dass Bakterien zu adsorbierten Proteinen binden, nicht jedoch, wenn diese in Lösung sind. Gibbons und Mitarbeiter konnten dies am Beispiel von *Actinomyces viscosus* zeigen, welches Segmente von prolinreichen Proteinen erst erkennen konnte, als diese zur Oberfläche adsorbiert waren (Gibbons *et al.*, 1990). Dieser Prozess resultiert in einer Adhäsion, die in Abwesenheit von physikalischen oder chemischen Interaktionen, irreversibel ist (Dunne, 2002).

4. Kolonisation

Nach einer initialen Latenzphase (*lag phase*), kommt es zu einem exponentiellen Wachstum der Population, in Abhängigkeit zu den physikalischen und chemischen Eigenschaften der Umgebung. In dieser Phase nimmt die Wichtigkeit der oben genannten Faktoren der Adhäsion ab und der biologische Prozess dominiert (Garrett *et al.*, 2008). Die adhärenten Bakterien können nun die Aggregation von weiteren Bakterien fördern. Auf Grund des Wissens, dass jeder Bakterienstamm spezifische Speichelmoleküle bindet, kann davon ausgegangen werden, dass jeder Stamm der frühen Kolonisatoren von bestimmten Molekülen bedeckt ist. Identische Zellen, umgeben von den gleichen Speichelmolekülen, können nun agglutinieren und zu lokal erhöhten Konzentrationen des gleichen Bakterienstamms führen (Whittaker *et al.*, 1996). Solche Effekte können die Verfügbarkeit und Anwesenheit von Speichelmolekülen für spätere Besiedler dramatisch verändern und modulieren (Whittaker *et al.*, 1996). Die Koaggregation kann mittels Erkennung von bestimmten Rezeptoren auf der Oberfläche von Zellen durch Adhäsine stattfinden. Des Weiteren wurde festgestellt, dass eine Beeinflussung der Adhäsion von späteren Kolonisatoren durch eine Veränderung der Virulenz des Biofilms durch bakterielle Proteine entstehen kann. Beispielhaft dafür ist die Sekretion der Glycosyltransferase durch *Streptococcus mutans,* für welche angenommen wird die Adhäsion von weiteren *S. mutans* und *Candida albicans* zu fördern (Siqueira *et al.*, 2012). Ebenso ist es manchen Bakterien möglich, während der Koaggregation ihre Genexpression zu modulieren, um so Proteine zu exprimieren welche die Zell-zu-Zell Adhäsion erleichtern (Jakubovics, 2015). *Staphylococcus epidermidis* ist in der Lage polysaccharide intrazelluläre Adhäsine (PIA) zu produzieren, welche eine essenzielle Rolle in der Zell-zu-Zell Adhäsion und der daraus folgenden Biofilmformation spielen (Dunne, 2002).

1.2.2 Organisation der Bakterien als Plaque

Adhärente Bakterien können nun proliferieren und einen reifen Biofilm bilden. Die Zusammensetzung dieser Plaque ist meist sehr charakteristisch und verändert sich mit zunehmendem Alter. Zu den Wegbereitern zählt man verschiedene Streptokokken-Spezies, vor allem *Streptococcus mitis* und *Streptococcus oralis,* sowie die Gattungen *Actinomyces, Gemella* und *Veillonella.* Erst nach 18 Stunden verändert sich die Plaque und weist eine höhere Diversität auf (Jakubovics, 2015). Die zweiten Kolonisierer zeichnen sich meist dadurch aus, dass sie nicht an glatte Oberflächen binden, sondern an bereits vorhandene Bakterien (Kolenbrander und London, 1993). Studien haben gezeigt, dass nach 24 Stunden bereits 10^7 Bakterienkolonien auf einer Fläche von 0,024 cm^2 gefunden werden können (Nyvad und Kilian, 1987). Die Anwesenheit einer reifen dentalen Plaque über einen längeren Zeitraum hinweg, kann zur Selektion von stärker acidogenen Bakterien führen. Diese haben eine höhere Leistungsfähigkeit die zugeführten Kohlenhydrate in Säure umzubauen und verstärken so die Demineralisation des Zahnschmelzes (Jakubovics, 2015)

Hierbei muss betont werden, dass sich die Zusammensetzung der dentalen Plaque stark unterscheiden kann, in Abhängigkeit von Nahrungsangebot, von der Umgebung und vom Reifegrad (Park *et al.*, 2015). Dieses Phänomen kann anhand einer subgingivalen dentalen Plaque veranschaulicht werden, welche eine wichtige Rolle in der Entstehung von Parodontopathien spielt: Die mikrobielle Zusammensetzung einer subgingivalen dentalen Plaque zeichnet sich im Vergleich mit einer supragingivalen Plaque durch eine höhere Anreicherung von obligat anaeroben Mikroorganismen aus (Jakubovics, 2015). Dabei handelt es sich um Bakterien wie *Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium nucleatum, Tannerella forsythia, Filifactor alocis, Treponema denticola* und *Fretibacterium spp*. (Griffen *et al.*, 2012). Ebenso kann das Substrat, auf welchem sich der Biofilm bildet, starken Einfluss auf dessen Eigenschaften nehmen (Auschill *et al.*, 2002).

1.2.3 Eigenschaften der Plaque

Das Auftreten von Mikroorganismen in Lebensgemeinschaften (Biofilm) ist keine Seltenheit und kann ubiquitär gefunden werden. Die wohl bekanntesten Beispiele im medizinischen Bereich sind Biofilme entlang zentraler Venenkatheter, Blasenkatheter und mechanischer Herzklappen (Donlan, 2001; Saint und Chenoweth, 2003). Diese Biofilme stellen ein allgemeines Gesundheitsrisiko für Personen mit Bedarf solcher medizinischen Versorgungen dar: Einerseits ist es nahezu unmöglich Mikroorganismen in Biofilmen durch antimikrobielle Medikamente zu behandeln, andererseits kann ein Ablösen der Mikroorganismen von der Oberfläche zu Infektionen führen (Donlan, 2001). Auch im zahnmedizinischen Bereich sind Biofilme, welche sich an den Zahnoberflächen bilden, verantwortlich für Erkrankungen in der Mundhöhle. Allen voran die oben bereits beschriebenen kariösen Läsionen und Parodontopathien (Belibasakis *et al.*, 2015). Artifizielle Oberflächen im Mund schaffen zusätzliche Prädilektionsstellen, welche von Biofilmen besiedelt werden können. Im Hinblick auf Kompositrestaurationen, ist solch eine Akkumulation eines Biofilms an und um Restaurationen, ein zentraler Grund für das Versagen dieser Versorgungen (Barbosa *et al.*, 2012). Bei der Betrachtung von Biofilmen in unmittelbarer Nähe zu dentalen Implantaten, wird die periimplantäre Mukositis durch eine Biofilm-induzierte Entzündung der weichen Mukosa um das Implantat verursacht. Eine Progression der Entzündung kann zu einer allmählichen Destruktion des Knochens führen und sich als Periimplantitis äußern (Belibasakis *et al.*, 2015; Berglundh *et al.*, 2018).

Das häufige Auftreten von Biofilmen ist nicht überraschend, wenn man die Vorteile für Bakterien beachtet, welche das Leben in einer solchen komplexen Gemeinschaft mit sich bringen (Dunne, 2002; Socransky und Haffajee, 2002). In einem Biofilm sind Gruppen von Bakterien eingebettet in extrazellulären polymeren Substanzen (EPS). Diese EPS bestehen nicht nur aus Exopolysacchariden, wie ursprünglich vermutet, sondern agieren als eine hydratisierte Struktur aus Polysacchariden, Proteinen, Lipiden und extrazellulärer DNA (Flemming *et al.*, 2016). Durch die Anwesenheit von EPS kann die Adhäsion von Bakterien an einer Oberfläche wie auch an weiteren Zellen vermittelt werden. Die EPS fördern die mechanische Stabilität des Biofilms und halten die interzellulären Abstände konstant. Somit werden Interaktionen, wie horizontaler Gentransfer, metabolische Kooperation und Quorum sensing zwischen

Zellen ermöglicht (Bowen *et al.*, 2018; Lin, 2017). Quorum sensing ist ein Mittel der chemischen Kommunikation unter Bakterien, abhängig von deren Zelldichte. Dabei können durch Veränderung der Genexpression, mechanische und enzymatische Prozesse beeinflusst werden. Somit spielt Quorum sensing eine wichtige Rolle in der Biofilmformation und der Erfassung der extrazellulären Umgebung von Bakterien (Garrett *et al.*, 2008; Renner und Weibel, 2011). Des Weiteren ermöglicht die Matrix dem Biofilm Nährstoffe aus der wässrigen Umgebung und dem Substrat, auf welchem der Biofilm wächst, einzulagern (Flemming *et al.*, 2016). Bakterien, eingebettet in EPS, haben gegenüber planktonischen Bakterien eine 1000-mal geringere Antibiotikaempfindlichkeit (Wolf *et al.*, 2012). Verantwortlich dafür sind neutralisierende Enzyme wie die β-Laktamase und IgA-Protease, die diffusionsresistente Matrix und die Entwicklung von Antibiotikaresistenzen in Bakterien durch Mutationen und Weitergabe von Genen (Tatakis und Kumar, 2005). Innerhalb des Biofilms agieren Bakterien nicht als einzelne Lebewesen, sondern funktionieren als eine koordinierte, teils organisierte und vollkommen metabolisch integrierte Gemeinschaft (Teughels *et al.*, 2006). Beispielhaft dafür ist das obligat anaerobe Bakterium *Fusobacterium nucleatum:* es besitzt die Eigenschaft an sauerstofftolerante Bakterien binden zu können und so als Brückenglied für andere anaerobe Bakterien zu fungieren, welche nicht mit sauerstofftoleranten Bakterien aggregieren können (Bradshaw *et al.*, 1998). Durch eine komplexe dreidimensionale Struktur der EPS, mit Poren, Lücken und turmähnlichen Ausbuchtungen (Hope und Wilson, 2003), herrschen innerhalb des Biofilms chemische Gradienten, lokale Veränderungen der Diffusion und Unterschiede im Nahrungs- und Sauerstoffangebot. So entstehen im Biofilm verschiedenste Bedingungen, um wiederum einer großen Anzahl an Bakterien den optimalen Lebensraum zu bieten (Bowen *et al.*, 2018; Lin, 2017). Folglich zeichnet sich der Biofilm auch durch eine höhere metabolische Diversität und Effizienz aus (Bowen *et al.*, 2018).

1.2.4 Endphase der Biofilmentwicklung

In der stationären Phase des Biofilms gleichen sich die Raten der Zellteilung und der Zelluntergänge an (Garrett *et al.*, 2008). Nach dieser Reifung oder in Stresssituationen (Nahrungsmangel, Hypoxie etc.) kann es zum geregelten Entlass

von Bakterien kommen (Lin, 2017). Dieser Prozess wird initiiert durch intrazellulär exprimierten Regulatoren, welche die Mobilität der Bakterien steigern und die Produktion von Exopolysacchariden vermindern (McDougald *et al.*, 2011). Auch mittels eigens produzierter Enzyme, welche die zusammenhaltenden Polysaccharide abbauen, können oberflächliche Bakterien aktiv befreit werden. Die nun gelösten Bakterien sind wiederum in der Lage neue Oberflächen zu besiedeln (Garrett *et al.*, 2008).

1.3 Eigenschaften von dentalen Werkstoffen und deren Einfluss auf die Akkumulation von Biofilmen auf deren Oberflächen

Die Adhäsion von Bakterien an Oberflächen ist essenziell für deren Überleben. Innerhalb der Mundhöhle ist die hohe Turnover-Rate des Epithels (drei Mal pro Tag) ein hervorragender Mechanismus, um sich vor einer Akkumulation von Bakterien zu schützen (Song *et al.*, 2015). Desquamationsfreie Oberflächen hingegen, wie Zähne, Restaurationen, Prothesen oder Implantate, sind sehr anfällig gegenüber der Formation von Biofilmen (Teughels *et al.*, 2006). Die Vulnerabilität von restaurativen Materialien gegenüber der Adhäsion von Mikroorganismen ist von höchster Aussagekraft für die Lebenserwartung der Restaurationen im oralen Milieu. Nach wie vor ist die Entwicklung von Kompositen, welche negativ auf die Adhäsion und Kolonisation von Biofilmen wirken, ein aktuelles Thema in der Materialforschung (Cazzaniga *et al.*, 2015).

In diesem Abschnitt soll auf die Eigenschaften von dentalen Kompositen eingegangen werden und insbesondere darauf, wie diese die Akkumulation von Biofilmen auf ihrer Oberfläche beeinflussen.

1.3.1 Oberflächenenergie

Die freie Oberflächenenergie (Surface Free Energie oder SFE) ist ein wichtiger Parameter, um die Reaktivität einer Oberfläche zu beschreiben. Sie beschreibt die gesamte Energie einer soliden Oberfläche, als ein Äquivalent zur

Oberflächenspannung einer Flüssigkeit (Cazzaniga *et al.*, 2015). Sie wird definiert als die Arbeit, die nötig ist um die Fläche einer Substanz um 1 cm^2 zu vergrößern (Ahn *et al.*, 2010). Es wurden verschiedene Methoden entwickelt, um die SFE messen zu können. Eine sehr banale Methode, besteht darin Flüssigkeiten, mit unterschiedlichen Hydrophobien, auf die zu testende Oberfläche aufzutragen und den Kontaktwinkel zu messen. Dabei wurde angenommen, dass die SFE der Oberfläche äquivalent zu der Flüssigkeit mit der höchsten SFE sei, welche die gesamte Oberfläche benetz (Cazzaniga *et al.*, 2015). Daher wird in der Literatur die Oberflächenenergie auch oft mit „Hydrophobizität“ oder „Benetzbarkeit“ beschrieben, wobei eine hohe SFE für ein hydrophiles Material und eine niedrige SFE für ein hydrophobes Material spricht (Song *et al.*, 2015). Diese Methode konnte jedoch nicht wiederspiegeln, dass die gesamte SFE einer Oberfläche von mehreren verschiedenen molekularen Interaktionen abhängig ist.

Den Einfluss der SFE eines Substrats auf die Adhäsion von Bakterien in einer Suspension konnte nun von Absolom und Mitarbeitern veranschaulicht werden (graphische Darstellung in *Abbildung 6*). Beachtet wurden dabei die SFE eines Bakteriums (γ_{bv}), die SFE des Substrats (γ_{sv}) und die Oberflächenspannung der umgebenden Suspension (γ_{lv}) um so die Adhäsionskraft des Bakteriums zum Substrat (ΔG_{adh}) zu berechnen. Wenn die Oberflächenspannung der Suspension (γ_{lv}) größer ist als die SFE des Bakteriums (γ_{bv}) wird die ΔG_{adh} weniger negativ bei steigender SFE des Substrats (γ_{sv}), was für eine steigende Adhäsion des Bakteriums an das hydrophobe Substrat spricht. Verändert man die Parameter zu $\gamma_{lv} < \gamma_{bv}$, kann von einem genau umgekehrten Effekt ausgegangen werden: eine stärkere Adhäsion (ΔG_{adh}) an ein hydrophiles Substrat (Absolom, 1988).

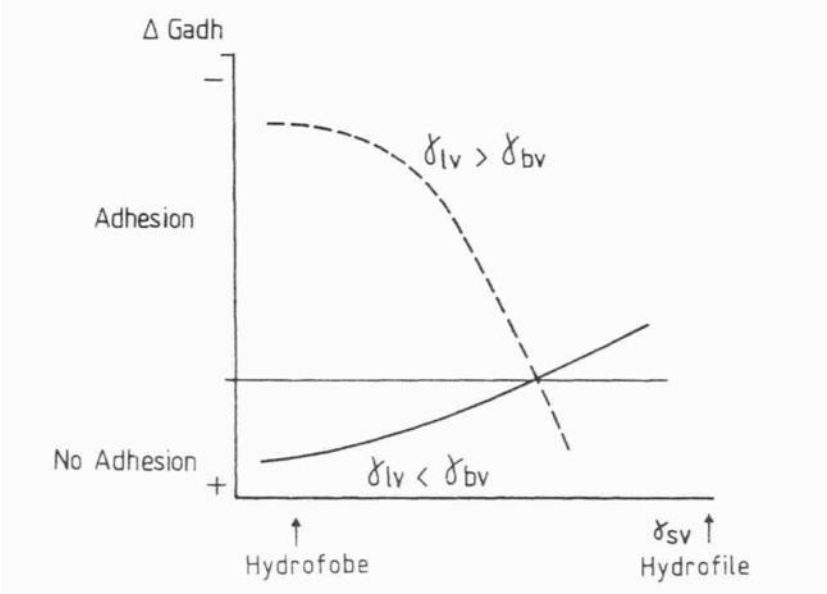

Abbildung 6: Theoretische Kalkulation der Adhäsionskraft eines Bakteriums an ein Substrat (Quirynen & Bollen, 1995)
Ist die Oberflächenspannung der Suspension größer als sie SFE des Bakteriums ($\gamma_{lv} > \gamma_{bv}$) (gestrichelte Linie), ist die Anziehungskraft des Bakteriums zum Substrat (ΔG_{adh}) größer, je höher die SFE des Substrats (γ_{sv}) ist. Dies spricht für eine höhere Wahrscheinlichkeit der Adhäsion zu einem hydrophoben Material. Bei umgekehrten Parametern ($\gamma_{bv} > \gamma_{lv}$) (durchgehende Linie) kann das genau gegenteilige Verhalten vorhergesagt werden: eine erhöhte Adhäsion zu hydrophilen Substraten.

Aus dieser mathematischen Berechnung könnten nun zwei Schlussfolgerungen gezogen werden:

(i) Bakterielle Tendenzen der Oberflächenhydrophobizität variieren unter den verschiedenen Spezies. Bakterien mit einer niedrigen SFE binden bevorzugt an Substrate mit einer niedrigen SFE, wobei Bakterien mit einer hohen SFE bevorzugt an Substrate mit hoher SFE binden.

(ii) Da die meisten oralen Bakterien eine hohe SFE (γ_{bv}) haben und der Speichel als Suspension eine relativ geringe Oberflächenspannung (γ_{lv}) hat, wird die Konstellation $\gamma_{lv} < \gamma_{bv}$ häufiger anzutreffen sein. Somit könnte man davon ausgehen, dass die Adhäsion von Bakterien an Substrate mit einer höheren SFE leichter ist (Quirynen und Bollen, 1995).

Die SFE wird vor allem mit der initialen Adhäsion von Bakterien an Oberflächen assoziiert, was dafürspricht, dass sich der Einfluss der SFE auf die mikrobielle Kolonisation mit der Zeit verringert (Ahn *et al.*, 2010).

Phänomene, die in Bezug auf die freie Oberflächenenergie zusätzlich Beachtung finden, sind die Superhydrophobie und Superhydrophilie, mit welchen man die Biofilmformation verhindern und selbstreinigende Oberflächen erhalten möchte (Song *et al.*, 2015). Der Ursprung für solche Ansätze liegt in anderen Teilgebieten der Naturwissenschaft: Lotusblätter sind überzogen von Wachsen mit einer sehr geringen SFE und haben eine einzigartige Struktur aus verästelten Nanostrukturen (100-200 nm), welche wiederum mit Mikrostrukturen (5-9 µm) übersät sind. Durch diese Architektur bleibt Luft in den winzigen Zwischenräumen gefangen und führt dazu, dass ein Wasserkontaktwinkel von 170° erreicht wird (Geissler *et al.*, 2013). Die Idee der Superhydrophilie beruht auf der Formation einer dichten Schicht aus Wassermolekülen auf der Oberfläche des Materials, um so die Interaktion zwischen Bakterium und Oberfläche zu erschweren und folglich die Adhäsion zu verhindern (Song *et al.*, 2015).

1.3.2 Oberflächenrauheit

Neben anderen Oberflächeneigenschaften, welche die Adhäsion und die folgende Biofilmformation beeinflussen, ist die Rauheit einer Oberfläche (Surface Roughness oder SR) ein wichtiger determinierender Faktor (Cazzaniga *et al.*, 2015; Hannig und Hannig, 2009). Es gibt viele Methoden, um die Rauheit einer Oberfläche zu ermitteln. Die am weitesten verbreitete, ist die mechanische Profilometrie mit Angabe der Rauheit mittels des Parameters R_a (Abu-Bakr *et al.*, 2001). Dieser entspricht dem arithmetischen Mittel der Abweichungen von der Mittellinie (Webb *et al.*, 2012).

Mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops konnte illustriert werden, dass die initiale bakterielle Kolonisation in Unregelmäßigkeiten, Spalten, Rillen oder Abrasionsdefekten in der Zahnoberfläche beginnt (Ono *et al.*, 2007; Quirynen und Bollen, 1995). Dies sind Orte an denen Bakterien von Scherkräften geschützt sind und der Adhäsionsprozess vom reversiblen ins irreversible Stadium ungestört ablaufen kann (Eick *et al.*, 2004). Dieser Effekt geht verloren an Stellen, an welchen generell keine Scherkräfte auftreten, wie subgingivale Oberflächen von Zähnen und Restaurationen (Cazzaniga *et al.*, 2015). Zusätzlich schaffen solche Unregelmäßigkeiten eine Oberflächenvergrößerung und folglich größere Areale an

welchen Bakterien mit der Oberfläche in Kontakt treten können (Anselme *et al.*, 2010). Im Hinblick auf Komposite sollte nicht vergessen werden, dass auf Grund ihrer komplexen Zusammensetzung – Füllerpartikel, welche in eine Matrix eingebettet sind – niemals eine komplett homogene Oberfläche entstehen kann. Veränderungen in der Matrix- oder Füllerzusammensetzung oder einfach nur die Form und Größe der Füller können zu einer Veränderung der SR und/oder Oberflächenchemie führen (Ionescu *et al.*, 2012).

In einer *in vivo* Studie durchgeführt von Quirynen und Mitarbeitern wurden Teststreifen mit unterschiedlicher SFE und SR an Zähnen von 16 Probanden angebracht und die ungestörte Plaqueanlagerung über 6 Tage hinweg beobachtet. Wie zu erwarten, waren nach der Beobachtungszeit, auf den rauen Streifen (R_a = 2,2 µm) eine statistisch signifikant größere Mengen an Plaque angelagert als an den glatten Streifen (R_a = 0,1 µm). Es wurde beobachtet, dass die Differenz in den SFE der Streifen nur nach 3 Tagen einen signifikanten Unterschied erweisen konnte. Dieser Effekt war jedoch nach 6 Tagen nicht mehr signifikant. Daraus schlussfolgerten Quirynen und Mitarbeiter, dass die SFE einen weitaus geringeren Effekt als die SR, auf die Adhäsion und Biofilmfomation der Bakterien habe. Auffällig war bei dieser Studie auch, dass die Plaque auf den rauen Streifen ausgereifter war, was sich durch weniger Kokken und größere Mengen an stabförmigen Bakterien zeigte (Quirynen *et al.*, 1990). Dieses Phänomen konnte in weiteren Studien bestätigt werden, als rauere Oberflächen höhere Proportionen von Spirocheten, Stäbchen und mobilen Organismen beherbergten (Bollen *et al.*, 1997; Teughels *et al.*, 2006).

In weiterführenden Untersuchungen konnte ein Schwellenwert von R_a = 0,2 µm festgelegt werden. Das bedeutet, dass trotz einer Reduktion der Oberflächenrauheit unter R_a = 0,2 µm keine weitere Reduktion der Bakterienadhäsion erwartet werden kann (Bollen *et al.*, 1997). Somit stellt eine Oberflächenrauheit von R_a = 0,2 µm das Ziel für die Oberfläche von dentalen Materialien dar (Bollen *et al.*, 1997; Ionescu *et al.*, 2012). Dennoch sollte bedacht werden, dass die Adhäsion von Bakterien neben der Oberflächenrauheit auch von Faktoren wie Größe, Form und Interaktionsfähigkeit des Bakteriums abhängig ist und so wohl keine universell optimale Rauheit für die Adhäsion von allen Bakterien in der Mundhöhle festgelegt werden kann, sondern nur eine Annäherung (Renner und Weibel, 2011).

An dieser Stelle sollte auch erwähnt werden, dass in der Mundhöhle alle desquamationsfreien Oberflächen von einer Pellikel, mit einer Dicke von 100 - 1000 nm, bedeckt sind (Siqueira *et al.*, 2012). Die Anwesenheit der Pellikel kann die physiochemischen Eigenschaften der Unterlage und so auch die Rauheit beeinflussen (Teughels *et al.*, 2006). Nichtsdestotrotz konnte festgestellt werden, dass eine Pellikel die Charakteristika der Oberfläche nicht völlig aufheben kann und dass die positive Korrelation zwischen bakterieller Adhäsion und Rauheit auch in Anwesenheit der Pellikel bestehen bleibt (Carlen *et al.*, 2001; Hannig und Hannig, 2009).

1.3.3 Topographie

In den letzten Jahren haben immer mehr Studien betont, dass die konventionelle Definition der Rauheit, basierend auf der durchschnittlichen Amplitude von Spitzen und Tälern, nicht mehr suffizient ist, um die 3-dimensionale Struktur einer Oberfläche widerzuspiegeln. Erst der Abstand und das Profil der abweichenden Amplituden können ein korrektes Bild der Topographie (auch Oberflächenbeschaffenheit) beschreiben (Siegismund *et al.*, 2014). Dies wurde vermehrt hervorgehoben, da die Topographie einer Oberfläche die Adhäsion von Bakterien fördern oder vermindern kann (Renner und Weibel, 2011). Besonders auffällig ist, dass Veränderungen der Oberfläche nicht nur im Nanobereich (welche bei der Rauheit beachtet wird), sondern auch im Mikrobereich große Auswirkung zeigen. So kann eine höhere Mikrorauheit zu einer erschwerten Adhäsion führen (Siegismund *et al.*, 2014). Hervorragende Beispiele, welche dieses Phänomen aufweisen, können wieder in der Natur gefunden werden: Untersuchungen an der Haut von Haien haben gezeigt, dass sie die Eigenschaft besitzt die Adhäsion beziehungsweise das Wachstum von Mikroorganismen zu verhindern. Dies ist auf die einzigartige Struktur der Schuppen (Placoidschuppen oder dermale Dentikel), angeordnet in einem Diamantmuster, zurückzuführen. Sie haben eine gerippte Oberfläche, mit definierter Höhe und Abstand der erhabenen Leisten, welche zu einer erschwerten Adhäsion von Bakterien führt. Zusätzlich wird der Wasserwiderstand herabgesetzt und Mikroorganismen können durch den schnellen Wasserstrom von der Oberfläche gelöst werden (Bixler und Bhushan, 2012). Dies inspirierte die Herstellung von

Sharklet AF^{TM}: Polydimethylsiloxan (PDMS) mit einem definierten Oberflächenmuster (Leisten mit 2 µm Breite, 3 µm Höhe, variierender Länge und Abständen von 2 µm) welches im Vergleich zu glatten PDMS die Formation von Biofilmen mindert (Scardino und de Nys, 2011). Besonders in der Schifffahrt, Wasseraufbereitungsanlagen und Wasserkraftwerken, wird versucht diese Technologie anzuwenden (Kuliasha *et al.*, 2017). Erste Ideen solche topografische Strukturen auch in medizinischen Implantaten zu integrieren wurden bereits geäußert (Chung *et al.*, 2007). Leider konnte diese Technologie jedoch noch nicht auf restaurative Füllungsmaterialien in der Zahnmedizin übertragen werden (Cazzaniga *et al.*, 2015).

Ein weiterer Ansatzpunkt für topographische Gestaltungen von Oberflächen ist das Erreichen der Superhydrophobie, wie bereits oben am Beispiel des Lotusblattes erläutert (Geissler *et al.*, 2013).

1.3.4 Oberflächenladung

Seit geraumer Zeit ist bekannt, dass die Ladung zweier in Kontakt tretender Oberflächen eine determinierende Kraft in der initialen Adhäsion und darauffolgenden Formation eines Biofilms ist (genauere Beschreibung in Kapitel 1.2.1) (Song *et al.*, 2015). Da die direkte Ladung einer Oberfläche schwierig zu messen ist, wird diese Interaktion oft durch das Zeta-Potential – abgeleitet von der elektrophoretischen Mobilität – charakterisiert (Soni *et al.*, 2008). Dabei weisen die meisten Bakterien ein negatives Zeta-Potential auf. Folglich sind allgemein gesprochen, positiv geladene Oberflächen anfällig für die Adhäsion von Bakterien und negativ geladene Oberflächen resistenter dagegen (Katsikogianni und Missirlis, 2010).

Ein spezielles Phänomen konnte anhand von positiv geladenen quartären Ammoniumverbindungen festgestellt werden, welche antimikrobielle Eigenschaften aufweisen. Dabei wird vermutet, dass deren extrem hohe elektrostatische Kräfte die Entfernung von anionischen Lipiden aus der Bakterienmembran ermöglichen und diese somit zerstört (Campoccia *et al.*, 2013).

Dass die Oberflächenladung auch eine langfristige Wirkung auf die Formation des Biofilms hat, konnte in einer Studie von Rzhepishevska und Mitarbeitern gezeigt werden: Es wurden *Pseudomonas aeruginosa* Biofilme einerseits auf einer negativ geladenen Oberfläche (poly (3-sulphopropyl methacrylate) oder SPM) und andererseits und auf einer positiv geladenen Oberfläche (poly(2-(methacryloyloxy)-ethyl trimethyl ammonium chloride) oder METAC) gezüchtet und miteinander verglichen. Dabei stellte man fest, dass der Biofilm auf der negativ geladenen Oberfläche eine pilzförmige Struktur aufwies und höhere Mengen an bis-(3',5')-di-Guanosinmonophosphats (zyklisches di-GMP oder c-di-GMP) enthielt. Diese hohen c-di-GMP Levels führen zu einer geringeren Motilität und fördern die Produktion von Adhesin CdrA und extrazellulären Polysacchariden Pel. Währenddessen wies der Biofilm auf der positiv geladenen Oberfläche eine flache und relativ einheitliche Struktur auf. Aufgrund dieser Beobachtungen wurde angenommen dass *P. aeruginosa* in der Lage ist, Zelleigenschaften zu adaptieren um besser auf negativ geladenen Oberflächen überleben zu können (Rzhepishevska *et al.*, 2013). Diese Studie verstärkt das Bewusstsein, dass nicht alleine Kenntnisse über materielle Eigenschaften zu korrekten Vorhersagen in der bakteriellen Adhäsion führen können. Die bakteriellen Eigenschaften und Adaptationsmechanismen dürfen keinesfalls außer Acht gelassen werden.

Auch bei der Betrachtung der Oberflächenladung darf die Anwesenheit der Pellikel nicht vernachlässigt werden. Bei einer *in vitro* Untersuchung von Titan konnte gezeigt werden, dass Bestandteile des adsorbierten Films dazu führten, dass Kalziumionen gebunden wurden, welche wiederum die Adhäsion von *Streptococcus mutans* und *Fusobacterium nucleatum* vermittelten. Dies ist jedoch nur ein Beispiel aus vielen verschiedenen Interaktionen, welche zwischen adsorbierten Komponenten an Oberflächen und Bakterien stattfinden können. Zu großen Teilen sind diese gegenseitigen Wechselwirkungen jedoch noch unerforscht (Badihi Hauslich *et al.*, 2013).

1.3.5 E-Modul

Der Einfluss des E-Moduls auf die bakterielle Adhäsion ist nach wie vor einer der am wenigsten erforschten Mechanismen (Song *et al.*, 2015). Der E-Modul beschreibt das proportionale Verhalten zwischen Spannung (σ) und Dehnung (ε) eines festen Stoffes bei Verformung. Er ist der Proportionalitätsfaktor im Hookschen Gesetz ($E=\sigma/\varepsilon$), beschreibt die Steifigkeit eines Stoffes und trägt die Einheit $E = N/mm^2 = Pa$ (Eichner und Kappert, 2005). Eine Studie von Lichter und Mitarbeitern hat die Adhäsion von *Staphylococcus epidermidis* auf Polyelektrolyt-Mulitlayern (PEM) mit unterschiedlichen E-Modulen ($E \sim 1$ MPa und $E \sim 100$ MPa) untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass bereits nach zwei Stunden (und ebenfalls bei einer zweiten Messung nach 24 Stunden) die durchschnittliche Koloniedichte auf dem Material mit der höheren Steifigkeit, weitaus größer war. Gleichzeitig waren die Kolonien auf dem steiferen Material jedoch kleiner. Aus diesen Beobachtungen wurde geschlussfolgert, dass die Steifigkeit eines Materials vor allem die initiale Adhäsion von Bakterien beeinflusst, das darauffolgende Wachstum jedoch durch ein geringeres Platz- und Nahrungsangebot limitiert wird (Lichter *et al.*, 2008).

Dies konnte von Saha und Mitarbeitern ebenfalls dokumentiert werden: die hier verwendeten Bakterien *Lactobacillus lactis* und *Escherichia coli* wiesen ebenfalls höhere Koloniemengen auf steiferen Materialien auf. Auch das Wachstum von *E. coli* war auf Materialien mit einem niedrigeren E-Modul schneller. *L. lactis* wurde im Wachstum jedoch nicht signifikant durch die unterschiedliche Steifigkeit der Materialien beeinflusst. Es wurde angenommen, dass das unterschiedliche Wachstum auf die variierende Komposition und Struktur der Zellwände der beiden Bakterien zurückzuführen war (Saha *et al.*, 2013). Song und Ren haben bei genaueren Untersuchungen jedoch festgestellt, dass die Adhäsion, das Wachstum, die Größe und die Anfälligkeit gegenüber Antibiotika von *E. coli* und *P. aeruginosa* auf Materialien mit höherer Steifigkeit geringer sind. Die Abweichungen zu vorangegangenen Studien, begründeten die Autoren mit Unterschieden im Versuchsaufbau: Allen voran ist das von ihnen verwendete Substrat PDMS im Gegensatz zu den davor verwendeten Materialien hydrophob und nicht hydrophil. Weiters weist es eine unterschiedliche Oberflächenladung auf und letztlich wurde der Versuch mit anderen Bakterienarten durchgeführt. Es wurde auch betont, dass viele

Materialeigenschaften die Adhäsion von Bakterien beeinflussen und daher strengstens darauf zu achten sei, andere Eigenschaften zu separieren um einen spezifischen Parameter untersuchen zu können (Song und Ren, 2014).

Generell sollte angemerkt werden, dass der grundlegende Mechanismus, durch welchen der E-Modul die Adhäsion von Bakterien beeinflusst, an sich noch relativ unerforscht ist. Jedoch kann davon ausgegangen werden, dass der E-Modul eines Materials die Adhäsion und Physiologie von Mikroorganismen beeinflussen kann (Lichter *et al.*, 2008; Saha *et al.*, 2013; Song *et al.*, 2015).

1.3.6 Chemische Zusammensetzung

Die meisten Komposite haben einen ähnlichen Aufbau. Sie bestehen aus anorganischen Füllern, einer organischen Matrix und einem Haftvermittler, welcher diese beiden Phasen vereint. Alleine daraus kann man schon schließen, dass kein Komposit eine homogene Oberfläche aufweist, sich aber mit topografischen und chemischen Differenzen innerhalb eines Materials präsentiert (Cazzaniga *et al.*, 2015). Schon durch die Variation der chemischen Zusammensetzung von Matrix oder Füllern, wie es zwischen vielen Marken von Kompositen üblich ist, kann die Adhäsion von Bakterien beeinflusst werden (Brambilla *et al.*, 2005; Ionescu *et al.*, 2012).

Dabei konnte ein Versuch zeigen, dass die chemische Zusammensetzung unterschiedliche Auswirkungen haben kann, in Abhängigkeit zu den getesteten Mikroorganismen. Es wurde die Biofilmformation, in Abhängigkeit zur Matrixzusammensetzung und Fülleranteil, einerseits mit *Streptococcus mutans* und andererseits mit einem Multi-Spezies-Biofilm getestet. Dabei stellte sich heraus, dass der Fülleranteil einen weitaus größeren Einfluss auf *S. mutans* hatte als die chemische Zusammensetzung der Matrix. Gegenteilig dazu hatte beim Multi-Spezies-Biofilm die Matrixzusammensetzung eine signifikante Auswirkung auf die Formation des Biofilms (Ionescu *et al.*, 2015).

Neben der Zusammensetzung eines Komposits konnte auch noch zwischen der Polymerisationszeit und der bakteriellen Adhäsion ein Zusammenhang erkannt

werden. Eine längere Polymerisationszeit führt dabei zu einer verminderten Biofilmformation auf der Restauration. Dies kann zurückgeführt werden auf den verringerten Gehalt von unpolymerisierten Monomeren (Brambilla *et al.*, 2009). Versuche zeigten, dass durch eine kurze Polymerisationszeit vermehrt Monomere wie Bis-GMA, UDMA und TEGDMA, in der oberflächlichen Schicht von Kompositen verblieben, in Lösung gingen und mit dem aufliegenden Biofilm wechselwirken konnten (Brambilla *et al.*, 2005). Die genauere Auswirkung solcher Inhaltsstoffe auf die dentale Plaque wird in den folgenden Kapiteln beschrieben.

Beim Betrachten der chemischen Zusammensetzung wird auch immer wieder die Politur betont. Durch die Politur einer Füllung, wird die oberste matrixreiche Schicht entfernt. Dies resultiert in einer Oberfläche, welche sich physisch und chemisch von ihrem unpolierten Gegenstück abhebt (de Oliveira *et al.*, 2012). Dabei kommt es zu einer Verbesserung der Rauheit, der Mikrohärte und der Füllerexposition (Cazzaniga *et al.*, 2015). Ebenso konnte festgestellt werden, dass polierte Oberflächen, aufgrund ihrer modifizierten chemischen Komposition, mit einer geringeren SFE einhergehen (Ionescu *et al.*, 2012). Dennoch sollte bedacht werden dass nicht alle Komposite alleine durch die Politur die gleiche Resistenz gegenüber der Formation von Biofilmen haben (Ono *et al.*, 2007).

1.4 Interaktionen zwischen Oberflächen und der aufliegenden Plaque

Wie bereits oben erwähnt, wird eine Sekundärkaries als häufigster Grund für das Versagen von direkten Füllungsmaterialien angegeben, wobei die Akkumulation von Biofilm um die Restauration eine maßgebende Rolle spielt (Barbosa *et al.*, 2012). Diese Problematik kann jedoch nicht auf einen einzigen Faktor reduziert werden. Eine Vielzahl von Faktoren begünstigt die Akkumulation von Biofilmen an dentalen Restaurationen, wie Lokalisation, marginale Spaltbildung an Restaurationen oder dentale Materialien, welche die Aktivität und das Wachstum von Biofilmen fördern (Auschill *et al.*, 2002; Hollanders *et al.*, 2018; Pinna *et al.*, 2017). In den letzten Jahren wurde deshalb in der Wissenschaft immer mehr Augenmerk auf die Interaktion zwischen Biofilmen und deren Umgebungen, also dentalen

Füllungsmaterialien, gelegt. Man wollte die Bedeutung dieses dynamischen Systems hervorheben und besser verstehen (Lin, 2017).

Es ist bekannt, dass verschiedene dentale Füllungsmaterialien, aufgrund ihrer unterschiedlichen Materialeigenschaften, den Biofilm auf verschiedenste Weise beeinflussen (Augthun und Brauner, 1988; Geurtsen, 1998). Darunter kann die „Vitalität“, also die metabolische Aktivität eines Biofilms, sowie die Dicke und das Ausmaß der Oberfläche, welche vom Biofilm bedeckt wird, stark beeinflusst werden (Auschill *et al.*, 2002). Gewisse Glasionomerzemente (GIZ) hemmen durch Fluoridfreisetzung das Wachstum von Biofilmen an deren Oberfläche. Auf Amalgamrestaurationen findet man typischerweise einen breiten Biofilm, welcher jedoch durch freigesetzte Ionen eine sehr geringe metabolische Aktivität aufweist (Busscher *et al.*, 2010; Friedl *et al.*, 1997). Komposite jedoch, haben sich als problematisch erwiesen, da Biofilme auf ihnen ein schnelleres Wachstum und eine höhere Vitalität aufweisen (Auschill *et al.*, 2002; Beyth *et al.*, 2008)

Ein Merkmal, durch welches sich Komposite von den übrigen Materialien abheben, sind deren Inhaltsstoffe. Eben diese sind auch ein Grund für deren problematische Wirkung auf Biofilme. Dabei handelt es sich vor allem um Restmonomere, aber auch Photoinitiatoren und andere Inhaltsstoffe, welche Einfluss auf den Biofilm nehmen können, wenn sie aus Füllungen herausgelöst werden (Hansel *et al.*, 1998). In Abhängigkeit von Zusammensetzung und Konversionsrate, welche bekanntlich nie vollständig ist, können nach dem Legen einer Füllung Bestandteile (z.B. TEGDMA und BisGMA) in die Mundhöhle freigesetzt werden (Hansel *et al.*, 1998; Hellwig *et al.*, 2010). Auch das orale Milieu beeinflusst dentale Füllungsmaterialien. Alleine durch hydrolytische Degeneration können Substanzen aus Kompositen eluiert werden: circa 5 bis 10% der „ungebundenen“ Monomere können durch Wasser aus einer Füllung gelöst werden (Hansel *et al.*, 1998). Des Weiteren katalysieren Enzyme aus dem Speichel die Hydrolyse von freien Estergruppen in den Kunststoffen. So können aus Kunststoffen organische Gruppen gelöst werden (beispielhaft dafür ist die Lösung von MAA, Bis-HPPP und TEG aus den Kunststoffen BisGMA und TEGDMA) (Singh *et al.*, 2009). Die Enzyme die am stärksten mit der Hydrolyse von Kunststoffen (aber auch Adhäsiven) assoziiert werden, sind Esterasen, die in Gingivaepithel und Speicheldrüsen gebildet werden (Bourbia und Finer, 2018).

Jene Inhaltsstoffe, die nun aus den Restaurationen herausgelöst werden, können einen maßgeblichen Einfluss auf den Biofilm nehmen (Auschill *et al.*, 2002). Eine Studie durchgeführt von Singh und Mitarbeitern, veranschaulicht, dass ausgelöste Inhaltsstoffe aus TEGDMA und EGDMA das Wachstum von *Lactobacillus acidophilus* und *Streptococcus sobrinus* fördern. Die dafür verantwortlichen Eluate wurden als Triethylenglycol (TEG) und Methacrylsäure (MAA) identifiziert (Singh *et al.*, 2009). Die von Khalichi und Mitarbeitern durchgeführten Versuche konnten zwei Effekte zeigen, welche TEG auf die Genexpression von Bakterien haben. In *Streptococcus mutans* wurde eine veränderte Expression der Glycosyltransferase B festgestellt (Khalichi *et al.*, 2009). Die Glycosyltransferase B ist eine der drei Glycosyltransferasen in *Streptococcus mutans,* welche Saccharose zu wasser-unlöslichen Polysacchariden modifiziert. Diese sind ein essenzieller Bestandteil der umliegenden Matrix, welche die Adhäsion von weiteren Zellen und zu glatten Oberflächen fördert und synthetisierte Säuren in unmittelbarer Nähe der Oberfläche halten (Matsumoto-Nakano, 2018; Tsumori und Kuramitsu, 1997). Im Vergleich dazu konnten Kawai und Tsuchitani zwar keine veränderte Genexpression, jedoch eine erhöhte enzymatische Aktivität der Glycosyltransferase in *Streptococcus sobrinus,* nach Exposition zu TEGDMA und Diglycidylmethacrylat, feststellen (Kawai und Tsuchitani, 2000). Der zweite Effekt, anschaulich gemacht durch die Studie von Khalichi und Mitarbeitern, war eine Veränderung im yfiV Gen in *Streptococcus mutans*, von welchem angenommen wird, dass es in der Fettsäuresynthese der Membran eine Rolle zu spielet und somit die Überlebenschancen in sauren Milieus erhöht (Khalichi *et al.*, 2009).

Die Interaktion zwischen Plaque und Substrat, ist jedoch keine einseitige Beeinflussung. Ebenso wie dentale Materialien den Biofilm beeinflussen können, hat die Plaque eine Wirkung auf ihre Unterlage. Die Kolonisation von Kunststoffen mit Mikroorganismen, führt zu schnellerer Degeneration und zum Abbau des Materials. Dies spiegelt sich wider in einer erhöhten Oberflächenrauigkeit, einer veränderten Füllerpartikelfreilegung und manchmal in einer verminderten Mikrohärte (Busscher *et al.*, 2010). Ein großes Augenmerk wurde in der Forschung auf *Streptococcus mutans* gelegt, welcher so hohe Esteraseaktivitäten aufweist, dass eine hydrolytische Degeneration von Kunststoffen möglich ist und Inhaltsstoffe aus dem Füllungsmaterial gelöst werden können (Bourbia und Finer, 2018). Diese eluierten

Inhaltsstoffe können, wie bereits oben beschrieben, das Wachstum oder die Virulenz der aufliegenden dentalen Plaque beeinflussen (Kawai und Tsuchitani, 2000; Khalichi *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2009). Somit wird die bakterieninduzierte Degeneration der Substrate wiederum verstärkt (Bourbia und Finer, 2018).

Eine von Beyth und Mitarbeitern (2008) durchgeführte Studie untersuchte unter anderem die Veränderung der Oberflächenrauheit von drei Kunststoffen nach einer ein-monatigen Exposition gegenüber *Streptococcus mutans*. Dabei zeigten Kunststoffe mit einer Füllergröße von 0,04 µm bis 0,2 µm, eine gesteigerte Oberflächenrauigkeit von 10 nm bis 40 nm. Basierend auf den Dimensionen der Rauigkeit, könnte davon ausgegangen werden, dass Füllerpartikel aus dem Kunststoff gelöst wurden. Bei den Kunststoffen mit größeren Füllerpartikeln wurde ein nicht so gravierender Anstieg in der Oberflächenrauigkeit festgestellt. Beyth und Mitarbeiter schussfolgern, dass es durch eine Exposition von Kunststoffen gegenüber Bakterien zu einer Veränderung der Oberfläche des Materials im Nanometerbereich kommt. Somit wird wiederum die weitere Adhäsion von Bakterien gefördert und ein „Teufelskreis“ entstehe, welcher langfristig zum Versagen einer Füllung führen könne (Beyth *et al.*, 2008).

An dieser Stelle sollte jedoch betont werden, dass der Abbau und Alterungsprozess von dentalen Füllungsmaterialien ein langwieriger und komplexer Prozess ist, an welchem weitaus mehr Faktoren als nur die Interaktion zwischen Biofilm und Material, eine Rolle spielen (Barbosa *et al.*, 2012). Da diese aber nicht ein Hauptaugenmerk dieser Arbeit darstellen sollen, werden sie nur in Kürze und aus Vollständigkeitsgründen angeführt:

Wie bereits oben genauer ausgeführt wurde, kommt es im oralen Milieu zu Degenerationen durch hydrolytische Prozesse und enzymatischen Abbau durch natürliche Speichelbestandteile (Hansel *et al.*, 1998; Singh *et al.*, 2009). Zusätzlicher Verschleiß und Erosion finden während der Lebenszeit einer Füllung durch Essenszufuhr, Kauen, Einnahme von sauren Lebensmitteln und Temperaturschwankungen statt (Busscher *et al.*, 2010; Oilo, 1992). Eine weitere Eigenschaft, die seit jeher eine Problematik darstellt, ist die Polymerisationsschrumpfung. Die Polymerisation eines Komposits führt zu einer Umsetzung der schwachen van der Waals Kräfte zu kovalenten Bindungen und

somit zur Approximierung der Monomere. Diese Volumenschrumpfung innerhalb einer Kavität kann zu Spannungen und marginalen Spalten führen, mit einer Reihe von möglichen Folgeerscheinungen, wie De-Bonding, postoperative Hypersensitivität und Microleakage (Meereis *et al.*, 2018). Besonders entlang solcher marginalen Spalten hat sich *Streptococcus mutans* als einer der ersten Besiedler erwiesen (Kidd und Beighton, 1996).

Trotz vieler Studien, lässt das heutige Wissen bezüglich der Degeneration von dentalen Materialien durch Biofilme, der Akkumulation von Biofilmen auf dentalen Materialien, der Interaktion dieser beiden Komponenten und deren Folgen noch einiges zu wünschen übrig (Barbosa *et al.*, 2012).

2 Fragestellung und Studienziele

Auf Grund großer ästhetischer Vorteile gegenüber Amalgam, wurde der Gebrauch von Kompositen und Compomeren immer beliebter. Über Jahre hinweg haben sich diese dentalen Werkstoffe als bewährtes direktes Füllungsmaterial in der restaurativen Zahnheilkunde etabliert (Ferracane, 2017).

Definiert man jedoch den Erfolg eines Füllungsmaterials, mit dessen Überlebensdauer in der Mundhöhle (Abu-Bakr *et al.*, 2001), so kann man langfristig auch mit Kompositen und Compomeren nicht immer einen Erfolg garantieren. Dabei wird von Behandlern die Sekundärkaries als häufigster Grund für den Austausch einer Kompositfüllung genannt (Astvaldsdottir *et al.*, 2015). Ein weiteres Problem ist die Irritation und Entzündung der umliegenden Gingiva durch die verstärkte Akkumulation von Plaque entlang gealterten Kompositfüllungen (van Dijken und Sjöström, 1995). Neben dem Verlangen nach besseren Materialeigenschaften in Bezug auf die Adhäsion und Kolonisation von Bakterien, werden auch Optimierungen in der Ästhetik und der Verarbeitung gefordert. Im Bestreben diesen Forderungen nachzukommen, gibt es fortlaufend neue Materialien auf dem Markt.

Das Ziel dieser Studie ist der Vergleich der bakteriellen Adhäsion von verschiedenen Bakterienstämmen zu direkten Füllungsmaterialien. Es wird angenommen, dass auf Grund der vielen materialbedingten Eigenschaften, welche die Adhäsion und die anschließende Formation von Plaque beeinflussen, und der spezifischen Adhäsions- und Kolonisationsmechanismen von Bakterien, ein Unterschied in den Plaqueretentionsraten zu beobachten sei.

In dieser in-vitro Studie werden die Mengen an adhärenten Bakterien von drei verschiedenen Stämmen auf sechs Kompositen und einem Compomer untersucht und miteinander verglichen. Durch das Hervorheben möglicher Unterschiede der Plaqueretention von verschiedenen Bakterien, soll das Verständnis des komplexen Adhäsionsverhaltens von Bakterien an unterschiedlichen Oberflächen erweitert werden.

3 Material und Methode

3.1 Herstellung der Probenkörper

In dieser Arbeit wurden sechs verschiedene Komposite und ein Compomer verwendet. Einen Überblick über die verwendeten Materialien und deren Hersteller bietet *Tabelle 1.*

Material	Lot-Nummer	Hersteller
Capo Bulk Fill	L.2017001143	Schütz Dental GmbH (Rosbach, Deutschland)
Capo Slow Flow	L.2016008833	Schütz Dental GmbH (Rosbach, Deutschland)
Tetric EvoCeram	L.V06397	Ivoclar Vivadent AG (Schaan, Liechtenstein)
Tetric EvoFlow	L.W10888	Ivoclar Vivadent AG (Schaan, Liechtenstein)
Dyract eXtra	L.1709000662	Dentsply Sirona (Charlotte, USA)
SDR flow+	L.D2071	Dentsply Sirona (Charlotte, USA)
NanoPaq	L.2015005205	Schütz Dental GmbH (Rosbach, Deutschland)

Tabelle 1: Verwendete Materialien

Bei der Herstellung der Probenkörper wurde darauf geachtet, dass der Herstellungsprozess, der klinischen Situation des Legens einer Füllung am Patienten gleicht. Für jedes Material wurden fünf Probenkörper, in Form von kleinen Plättchen (5,7 mm Durchmesser und 2,3 mm Höhe), hergestellt. Diese sind in *Abbildung* 7 schematisch dargestellt.

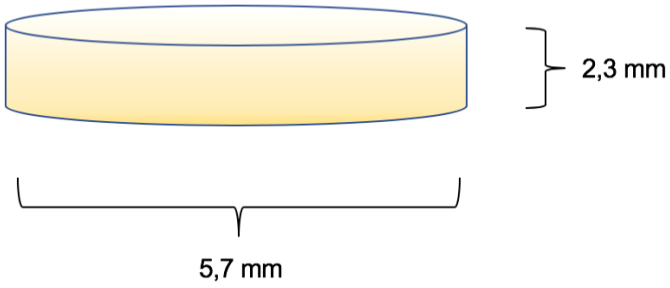

Abbildung 7: Schematische Darstellung der Probenkörper

Um von allen Materialien identische Probenkörper herzustellen, wurde eine Form aus Aquasil Hard Putty (Densply Sirona, Charlotte, USA) hergestellt, vergleichbar mit einer Kavität nach Kariesexkavation. Die Werkstoffe wurden direkt in die Silikonform injiziert, mit einem Kugelstopfer adaptiert und mittels Mini LED Lichthärtegerät (Acteon/Satelec, Mérigac, Frankreich) bei einer Leistung von > 800 mW/cm^2 im Abstand von 2 mm zur Oberfläche, lichtgehärtet. In diesen Schritten wurde darauf geachtet, die Materialien streng nach Herstellerangaben zu verarbeiten, um die bestmöglichen Materialeigenschaften zu erlangen. Dies beinhaltete das Einhalten der maximalen Schichtstärke und der Mindest-Polymerisationszeit. Diese Werte wurden den Gebrauchsanweisungen der jeweiligen Hersteller entnommen und sind in *Tabelle 2* aufgeführt.

Material	Maximalschichtstärke	Polymerisationsdauer
Capo Bulk Fill	4 mm	40 s
Capo Slow Flow	2 mm	40 s
Tetric EvoCeram	2 mm	20 s
Tetric EvoFlow	2 mm	20 s
Dyract eXtra	2 mm	10 s
SDR flow+	4 mm	40 s
NanoPaq	2 mm	40 s

Tabelle 2: Maximalschichtstärken und Polymerisationsdauer jeweiliger Materialien

Die weitere Verarbeitung und Politur wurden bei allen Materialien identisch durchgeführt und an die gebräuchlichsten klinischen Arbeitsschritte unter Zahnärzten angepasst. Die Entfernung von Überschüssen und die grobe Ausarbeitung erfolgten bei 15.000 U/min und unter Wasserkühlung. Die Politur wurde in zwei Schritten durchgeführt, mit Silikonpolierern (Acurata, Thurmansbang, Deutschland) bei 8000 U/min und Wasserkühlung. Diese Silikonpolierer sind in *Abbildung 8* dargestellt. Alle beschriebenen Arbeitsschritte fanden bei Raumtemperatur (23,5 ± 2 °C) statt. Bis zur weiteren Verwendung wurden alle Probenkörper in sterilem Wasser (Fresenius Kabi, Bad Homburg von der Höhe, Deutschland) gelagert.

Abbildung 8: Silikonpolierer

Eine Auflistung der Zusammensetzung und Inhaltsstoffe aller verwendeten Materialien wird in *Tabelle 3* gegeben. Die technischen Eigenschaften der verwendeten Materialien können *Tabelle 4* entnommen werden. Alle Angaben basieren auf Informationen bereitgestellt durch Gebrauchsanweisungen und Sicherheitsdatenblätter der jeweiligen Hersteller.

Material	Matrix	Füller
Capo Bulk Fill	DUDMA, Butandioldimethacrylat	k.A.

Capo Slow Flow	DUDMA, Butandioldimethacrylat	k.A.
Tetric EvoCeram	Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA	Bariumglas, Ytterbium(III)-fluorid, Mischoxide, Copolimere
Tetric EvoFlow	Bis-GMA, UDMA, DDMA	Bariumglas, Ytterbium(III)-fluorid, hochdisperses Siliciumdioxid, Mischoxide, Copolimere
Dyract eXtra	UDMA, TCB Harz, TEGDMA, TMPTMA, Dimethacrylat-Harze	Strontiumalumino-Natrium-Fluoro-Phosphor-Silikatglas, Hochdisperses Siliziumdioxid
SDR flow+	modifiziertes UDMA, EBPADMA, TEGDMA	Barium-alumino-fluoro-boro-silikat-Glas, Strontium-alumino-fluoro-silikat-Glas
NanoPaq	DUDMA, Bis-GMA	Glasfüllstoff, pyrogene Kieselsäure, agglomerierte Nanopartikel

Tabelle 3: Zusammensetzung der untersuchten Materialien

Material	Partikelgröße der anorganischen Füller	Füllstoffvolumen	E-Modul
Capo Bulk Fill	0,04 - 15 µm	77 w/w %	11090 MPa
Capo Slow Flow	0,04 - 15 µm	77 w/w %	12316 MPa

Tetric EvoCeram	0,04 - 3 µm	82-83 w/w %	10000 MPa
Tetric EvoFlow	0,04 - 3 µm	62 w/w %	5100 MPa
Dyract eXtra	0,8 µm	k.A.	7676 MPa
SDR flow+	0,02 - 10 µm	47 v/w %	k.A.
NanoPaq	0,028 - 15 µm	83 w/w %	18000 MPa

Tabelle 4: Technische Daten der verwendeten Materialien

3.2 Mikrobiologische Arbeitsschritte

3.2.1 Bakterienstämme

Aus den zahlreichen Mikroorganismen, welche in der dentalen Plaque gefunden werden können, wurden in dieser Studie drei repräsentative Bakterienstämme ausgewählt.

I. *Streptococcus mutans* ist ein wichtiger Faktor in der Ätiologie der kariösen Läsion (Krzysciak *et al.*, 2014).

II. *Actinomyces naeslundii* ist einer der frühen Kolonisatoren von Oberflächen im oralen Milieu (Paddick *et al.*, 2006).

III. *Veillonella parvula* ist eines der vielen Bakterien, welche mit parodontalen Erkrankungen, wie Gingivitis, in Verbindung gebracht wird (Trombelli *et al.*, 2018) und wird vermehrt in subgingivaler Plaque vorgefunden (Hughes *et al.*, 1988).

Die in dieser Studie verwendeten Bakterienstämme sind in *Tabelle 5* mit Charakteristika und Herkunft angeführt.

Bakterienstamm	Charakteristika	DSM-Nr.
Streptococcus mutans	Fakultativ aerob Gram-positiv kokkenförmig	DSM-Nr.: 20523

Actinomyces naeslundii	Fakultativ anaerob Gram-positiv stäbchenförmig	DSM-Nr.: 17233
Veillonella parvula	Obligat anaerob Gramm-negativ kokkenförmig	DSM-Nr.: 2007

Tabelle 5: Verwendete Bakterien

3.2.2 Kultivierung der Bakterien

Für die Anzucht der fakultativ aeroben und anaeroben Bakterienstämme wurden die, bei −80 °C gefrorenen Stammkulturen (DSMZ, Braunschweig, Deutschland), anfangs bei Raumtemperatur (23 ± 2 °C) aufgetaut. Daraufhin wurden die Bakterien mit einer Impföse nach der Dreifelderausstreich-Methode auf einzelne Schaedler-Agar-Platten (BD Schaedler Agar mit Vitamin K1 und 5% Schafblut, Becton, Dickinson and Company, New Jersey, USA) übertragen. Diese Methode wird in *Abbildung 9* dargestellt. Nach 48 Stunden im CO_2- Inkubator (Steri-Cult CO_2 Incubator HEPA CLASS 100, Thermo Electron Corporation, Massachusetts, USA), bei einer Temperatur von 37 °C, einer CO_2-Konzentration von 5,8% und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60%, wurde das Wachstum der Keime kontrolliert. Die obligat anaeroben Keime wurden mit der gleichen Methode bei 37 °C und unter strikt anaeroben Bedingungen kultiviert. Das anaerobe Milieu konnte durch ein Containersystem generiert werden: Dabei wurden die Schaedler-Ager-Platten, gemeinsam mit einem CO_2-Generator (BD BBL™ CO_2 generators, Becton, Dickinson and Company, New Jersey, USA) in verschließbaren Containern (BD GasPak™ EZ container system, Becton, Dickinson and Company, New Jersey, USA) gelagert.

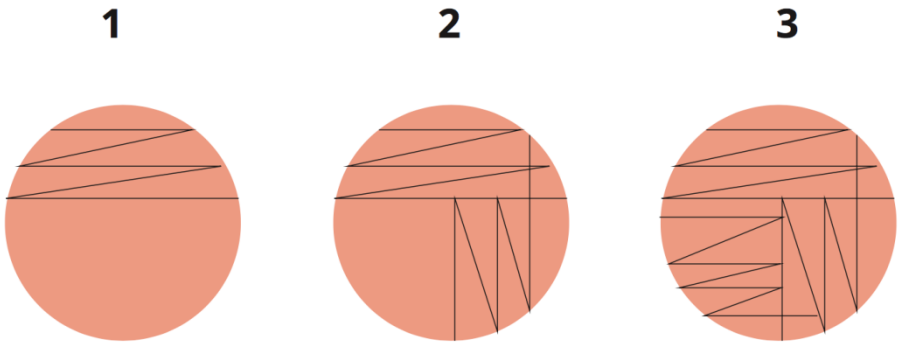

Abbildung 9: Dreifelderausstreich-Methode
Mit einer sterilen Impföse wird eine Einzelkolonie der Mikroorganismen aufgenommen und durch serpentinenartige Streichbewegungen auf das Nährmedium aufgetragen. Durch das stetige Abstreifen der Mikroorganismen auf das Nährmedium entsteht eine Verdünnung der Mikroorganismen. Nach einer Inkubationszeit, unter den geeigneten Bedingungen für die verwendeten Mikroorganismen, können sich somit Einzelkolonien entwickeln.

3.2.3 Stammhaltung

Die Stammerhaltung wurde garantiert durch ein stetiges überimpfen der Bakterien alle drei bis vier Tage. Nach 14-21 Tagen wurden, nach dem oben beschriebenen Verfahren, frische Bakterienstämme kultiviert.

3.2.4 Reinigung der Probenkörper

Die Probenkörper wurden vor jedem Versuch in 0,2%-iger Chlorhexidindigluconatlösung (CHX 0,2%) für 30 Sekunden eingelegt, um sie zu desinfizieren. Dafür wurden 20 µl CHX 20% (Sigma-Aldrich, Missouri, USA) mit 1980 µl H_2O (Fresenius Kabi, Bad Homburg von der Höhe, Deutschland) verdünnt. Bis zum weiteren Gebrauch wurden die Probenkörper in sterilem 0,9% NaCl (Fresenius Kabi, Bad Homburg von der Höhe, Deutschland) gelagert.

3.2.5 Anzucht des Biofilms

Für jeden Kunststoff wurden fünf der gereinigten und bereitgestellten Probenkörper einzeln in ein einem Reagenzglas mit 900 µl Brain Heart Infusion (BHI) eingelegt. Die genaue Zusammensetzung des Nährmediums ist dem Anhang zu entnehmen. Die kultivierten Bakterien wurden mit einer Impföse von der Agarplatte aufgenommen und in 750 µl BHI in einem Eppendorf Reaktionsgefäß resuspendiert und gevortext (Reagensglasmixer Vortex (7-2020), neoLab, Heidelberg, Deutschland) um sicher zu gehen, dass diese gleichmäßig im Medium verteilt sind. Die nun in BHI suspendierten Bakterien wurden auf fünf Probenkörper verteilt. Dafür wurden einzeln 100 µl der Bakterien-Medium-Suspension entnommen und je einem der Reagenzgläser mit 900 µl BHI und einem Probenkörper hinzugefügt. Um das Wachstum des Biofilms zu gewährleisen, wurden die Proben für fünf Tage in den Schüttelinkubator (MaxQ ™ HP Tisch-Orbitalschüttler, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) bei 37 °C und 40 rpm, inkubiert. Dieser Ablauf wird in *Abbildung 10* schematisch veranschaulicht.

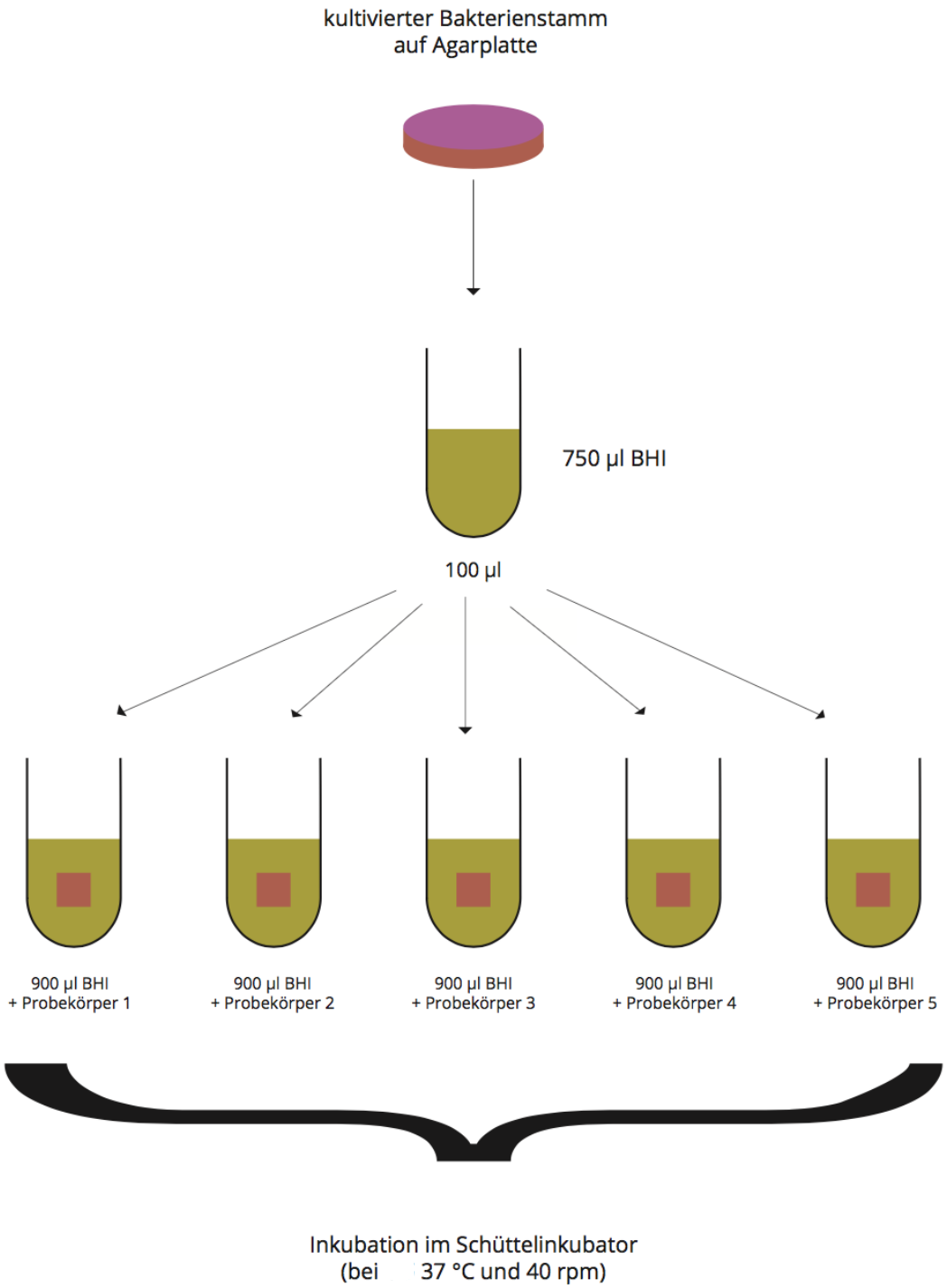

Abbildung 10: Schematische Darstellung der Anzucht des Biofilms

3.2.6 Verdünnen und Ausplattieren des Biofilms

Da bei diesem Versuch nur die direkt verankerten Bakterien, als Teil des Biofilms, quantifiziert werden sollen, wurden die nicht adhärenten Bakterien von den

Materialien entfernt. Dazu wurde nach fünf Tagen jedes einzelne Plättchen mit einer sterilen Pinzette aus der Bakterien-BHI-Suspension aufgenommen, und in ein Falcon mit 0,9% NaCl gegeben. Jeder Probenkörper wurde in dem Falcon mit NaCl geschwenkt, um die nicht adhärenten Bakterien vom Plättchen zu lösen. Der Probenkörper mit den adhärenten Bakterien wurde daraufhin in ein Eppendorf Reaktionsgefäß mit 1000 µl sterilem 0,9% NaCl gegeben. Nun wurde dies für 45 Sekunden gevortext um die adhärenten Mikroorganismen vom Plättchen zu lösen und gleichmäßig in der Flüssigkeit zu verteilen.

Um eine Verdünnungsreihe herzustellen wurden jeweils 100 µl der Bakterien-NaCl-Suspension in weite 900 µl sterilem 0,9% NaCl pipettiert und diese wiederum gevortext um eine gleichmäßige Verteilung zu gewährleisten. Aus der verdünnten Suspension wurden wieder 100 µl entnommen und in weiteren 900 µl sterilem 0,9% NaCl verdünnt. Dieses Verfahren wurde analog weitergeführt um eine Verdünnungsreihe bis zum Faktor 10^{-5} zu erzielen. Von jeder Verdünnung bis hin zu der originalen Suspension wurden 100 µl entnommen und auf eine Schaedler-Agar-Platte pipettiert, um sie dann auszuplattieren und gleichmäßig auf der Platte zu verteilen. Die gleichmäßige Verteilung mittels steriler Spatel auf den Agarplatten sollte im Idealfall gewährleisten, dass die Mikroorganismen in einem Abstand voneinander zu liegen kommen. Unter den richtigen Bedingungen kann so jedes Individuum durch Wachstum und Vermehrung eine fürs Auge sichtbare Kolonie bilden. Diese gebildeten Kolonien können in weiterer Folge quantifiziert werden. Somit erhält man eine Kennzahl für die Menge an lebenden Mikroorganismen auf jeder Agarplatte. Der Aufbau der Verdünnungsreihe wird in *Abbildung 11* noch einmal dargestellt.

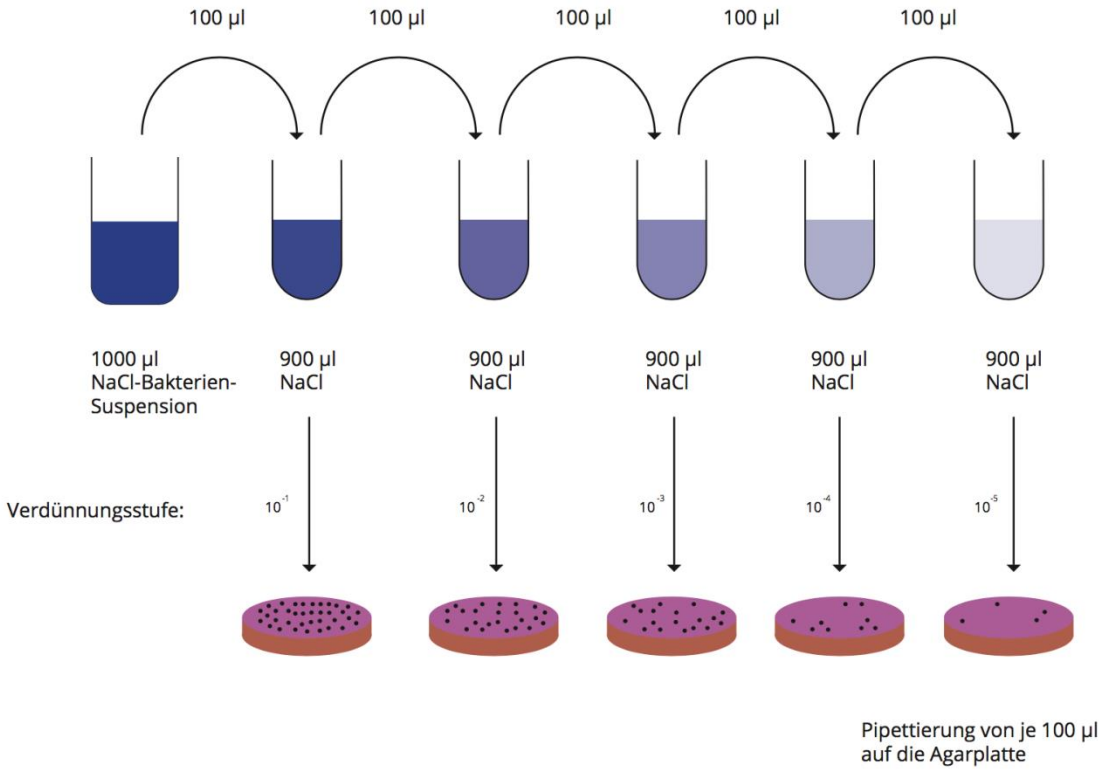

Abbildung 11: Verdünnungsreihe

Der Versuchsaufbau für den obligat anaeroben Bakterienstamm *Veillonella parvula* wurde analog zu den eben beschriebenen Arbeitsschritten durchgeführt, allerdings in einer anaeroben Umgebung. Dieses anaerobe Milieu wurde, wie bereits oben beschrieben, mit Hilfe von Containersystemen und CO_2-Generatoren erlangt.

3.2.7 Quantifizierung der Bakterienlast

Nach 72 – 96 Stunden wurden die Schaedler-Agar-Platten dem Inkubator entnommen und es konnte eine Quantifizierung der Bakterienlast, mittels Auszählen der geformten Kolonien, durchgeführt werden. Somit wurde für jede Agarplatte ein CFU-Wert (colony forming unit, koloniebildende Einheit) ermittelt.

Auf Grund der vorab erfolgten Verdünnungsreihe, gab es pro Probenkörper sechs Agarplatten, die zur Auszählung herangezogen werden konnten. Jene Platten,

welche eine so hohe Bakterienlast aufwiesen, dass die gebildeten Kolonien nicht klar voneinander zu unterscheiden waren, wurden für die Auswertung nicht verwendet. Die Auszählung und damit der Einschluss in die statistische Auswertung fand somit nur bei Platten statt, die eine Koloniezahl von 5 – 700 Kolonien aufwiesen. Der gezählte CFU-Wert wurde zu allen Platten dokumentiert und tabellarisch festgehalten.

Um eine statistische Auswertung möglich zu machen musste mit einem Einheitswert gearbeitet werden, welcher mit CFU/ml festgelegt wurde. Aus jeder Verdünnungsreihe wurden repräsentativ zwei konsekutive Werte mit einer Anzahl zwischen 70 und 700 CFU ausgewählt und mit ihrem jeweiligen Verdünnungsfaktor multipliziert um den Einheitswert CFU/ml zu erlangen. Aus diesen beiden Werten konnte nun für jeden Probenkörper ein Mittelwert an gebildeten Kolonien pro ml errechnet werden. So wurden für jede Kombination aus Material und Bakterium fünf Mittelwerte errechnet werden.

1.5 Statistische Auswertung

Die deskriptive Auswertung der mikrobiologischen Daten erfolgte über die Darstellung der Mittelwerte mit zugehöriger Standardabweichung in Balkendiagrammen. Diese wurden mit Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, Washington, USA) erstellt. Das Aufzeigen statistischer Unterschiede erfolgte bei Vorliegen nicht normalverteilter Daten mittels eines Kruskal-Wallis-Tests mit anschließendem Dunn’s-Test zur Post-Hoc-Analyse in der Software SPSS (IBM, Armonk, New York, USA). Hierbei wurde eine Alpha-Level-Korrektur nach Bonferroni angewendet. P-Werte unter 0.05 wurden als signifikant gewertet.

4 Ergebnisse

Für die Veranschaulichung der erhaltenen CFU/ml-Werte wurden Diagramme erstellt. Wie oben beschrieben erbrachte jede Material-Bakterienstamm-Kombination fünf Mittelwerte. Aus diesen fünf Werten wurde wiederum ein Mittelwert und eine Standardabweichung errechnet. Die dazugehörigen Diagramme können in *Abbildung 12, 13* und *14* gefunden werden.

4.1 *Streptococcus mutans*

Innerhalb der Versuchsreihe mit *Streptococcus mutans* wiesen die getesteten Materialien ähnlich geringe, wenn auch signifikant unterschiedliche Adhäsionswerte auf ($p = 0{,}007$). Auffälligkeiten gab es nur bei NanoPaq und Capo Slow Flow (siehe *Abbildung 12*). Ersteres stach durch eine hohe Adhäsion von *S. mutans* heraus (Mittelwert: 4632 CFU/ml). Letzteres zeichnete sich durch die geringste Adhäsion von allen getesteten Materialien aus (Mittelwert: 478 CFU/ml). Ein signifikanter Unterschied besteht auch nur zwischen diesen beiden Materialien NanoPaq und Capo Slow Flow ($p = 0{,}002$). Alle restlichen Materialien wiesen recht konstante Adhäsionswerte (Mittelwerte: 1370 CFU/ml – 2224 CFU/ml) ohne signifikante Unterschiede auf.

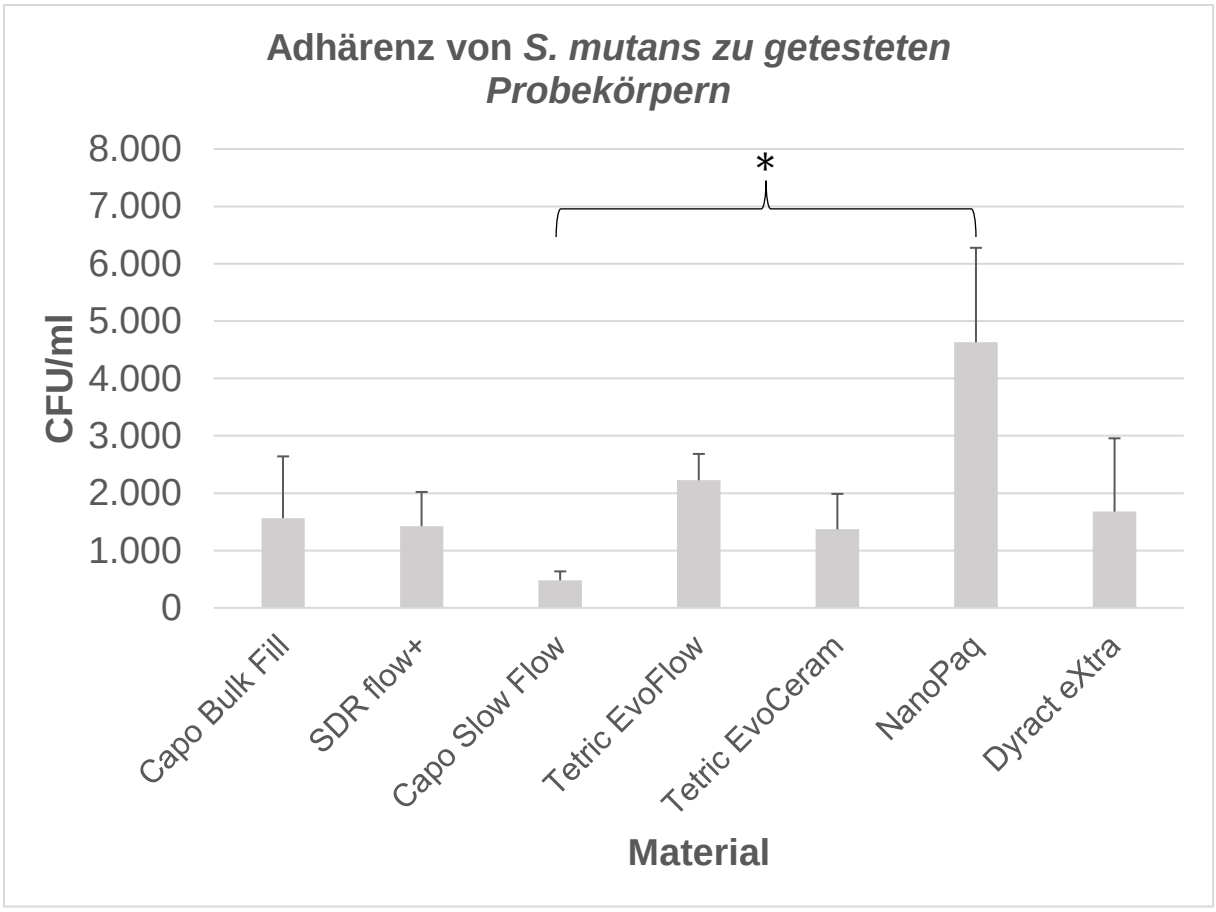

Abbildung 12: Adhärenz von S. mutans zu den getesteten Probenkörpern
** p = 0,002*

4.2 *Actinomyces naeslundii*

Actinomyces naeslundii zeigte signifikante Unterschiede in dessen Adhäsionsmengen zu den verschiedenen getesteten Materialien (siehe *Abbildung 13,* $p < 0{,}001$). NanoPaq, als Material mit den höchsten Mengen an adhärenten Bakterien, zeigte signifikante Unterschiede im Vergleich zu Capo Bulk Fill ($p = 0{,}047$), Dyract ($p = 0{,}013$) und Tetric EvoFlow ($p < 0{,}001$). Letzteres Material Tetric EvoFlow erwies sich als das Komposit mit den geringsten Adhäsionswerten. Signifikante Unterschiede konnte Tetric EvoFlow zusätzlich noch verglichen mit Tetric EvoCeram ($p = 0{,}022$) und SDR flow+ ($p = 0{,}016$) aufweisen.

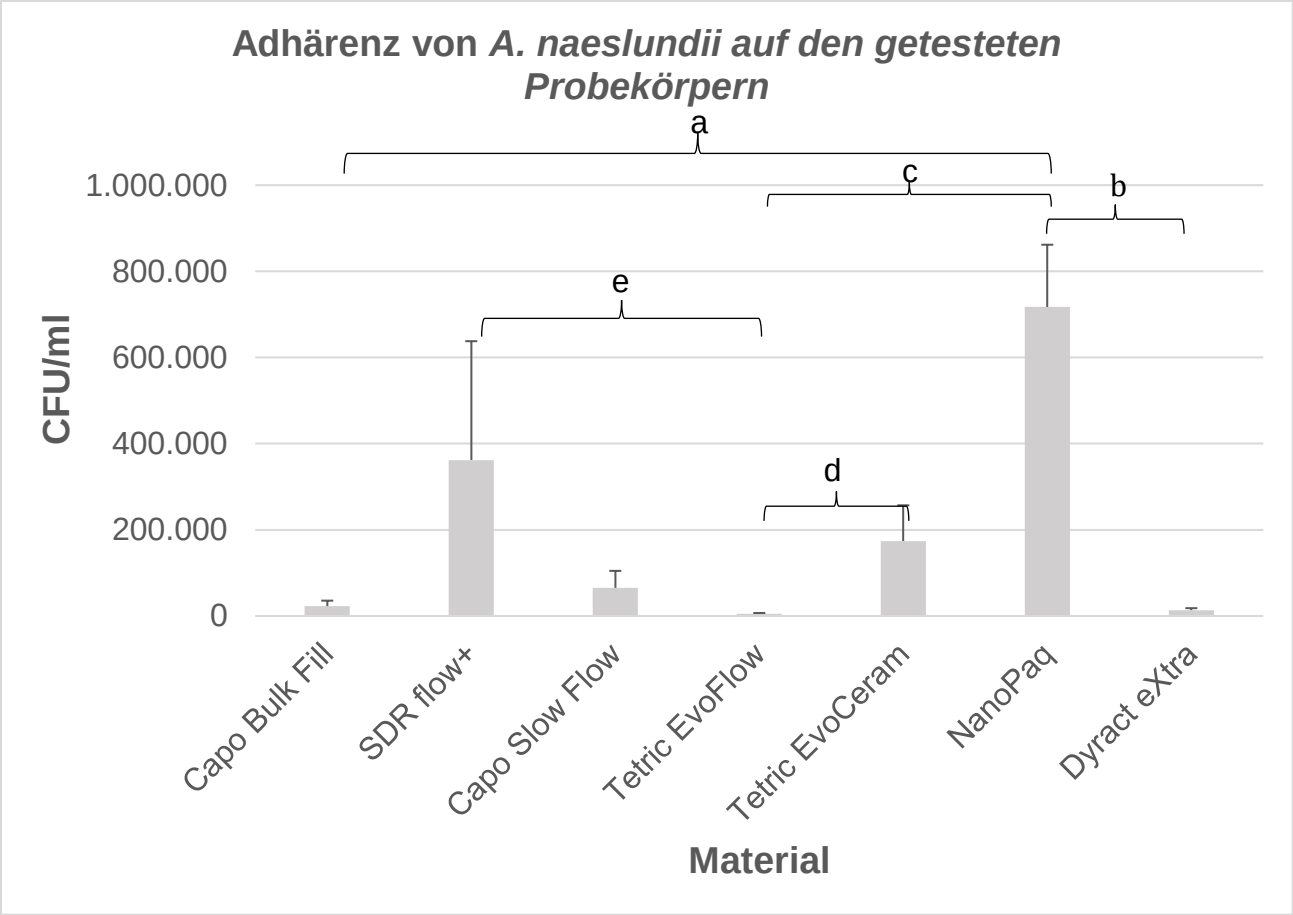

Abbildung 13: Adhärenz von A. naeslundii zu den getesteten Probenkörpern
a p = 0,047, b p = 0,013, c p = 0,000, d p = 0,022, e p = 0,016

4.3 *Veillonella parvula*

Die Ergebnisse der Versuchsreihe mit *Veillonella parvula* zeigen, ähnlich zu den Versuchen mit *Streptococcus mutans,* ein recht einheitliches Muster der Adhäsion mit nur zwei Extremen (siehe *Abbildung 14, p = 0,002).* Die weitaus höchsten Adhäsionswerte weist SDR flow+ auf (Mittelwert: 119760 CFU/ml) und Dyract eXtra zeichnet sich als das Material mit der geringsten Adhäsion aus (Mittelwert: 4064 CFU/ml). Die restlichen Komposite verteilen sich in einem breiten Mittelfeld (Mittelwerte: 11862 CFU/ml – 30884 CFU/ml). Eine Signifikanz gibt es nur zwischen den Materialien mit der höchsten und geringsten Adhäsion SDR flow+ und Dyract eXtra ($p < 0,001$)

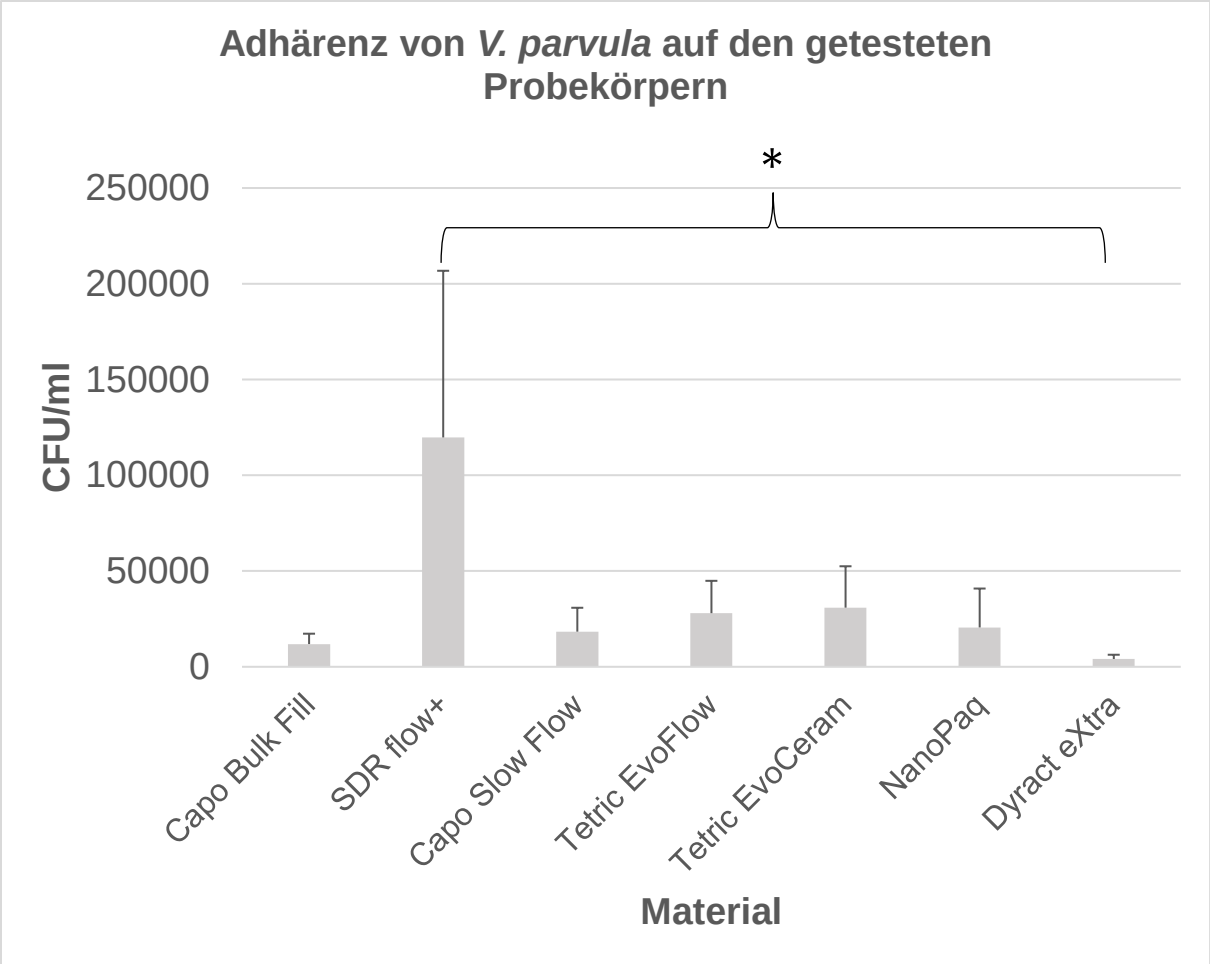

Abbildung 14: Adhärenz von V. parvula zu den getesteten Probenkörpern

∗ p < 0,001

4.4 Unterschiede der bakteriellen Adhäsion von drei verschiedenen Bakterienstämmen zu dem jeweils gleichen Material

Im statistischen Vergleich aller Materialien zur Adhäsion der drei unterschiedlichen Bakterien konnten auch signifikante Unterschiede zwischen den Bakterien erkannt werden (siehe *Tabelle 6)*. Es zeigt sich eine Tendenz, dass *Streptococcus mutans* im Vergleich zu *Veillonella parvula* ($p < 0{,}001$) und zu *Actinomyces naeslundii* ($p < 0{,}001$), geringer an die jeweiligen Materialien zu bindet.

Material	CFU/ml		
	S. mutans	*A. naeslundii*	*V. parvula*
Capo Bulk Fill	1564	22890	11862
SDR flow+	1424[ab]	362050[a]	119760[b]
Capo Slow Flow	478[c]	65350[c]	18348
Tetric EvoFlow	2224	5199	28000
Tetric EvoCeram	1370[d]	173980[d]	30884
NanoPaq	4632	717220	20556
Dyract eXtra	1677	13516	4065

Tabelle 6: Differenz der bakterienspezifischen Adhäsion zu den getesteten Probenkörpern

a: p = 0,017, b: p = 0,033, c: p = 0,017, d: p = 0,012, Dunn's-Test mit Korrektur nach Bonferroni

5 Diskussion

Die Erforschung der Zusammenhänge von physiochemischen Eigenschaften dentaler Füllungsmaterialien, durch Zusammensetzung, Herstellung, Nachvergütung, Alterung und vielen weiteren Beeinflussern, und bakterieller Adhärenz ist keine moderne Erscheinung. Seit geraumer Zeit beschäftigt sich die Literatur mit den verantwortlichen Phänomenen. Dennoch muss man betonen, dass es eine Wissenslücke im Mechanismus der vermehrten oder verringerten Adhäsion und Biofilmformation im Hinblick auf Materialien mit unterschiedlichen Eigenschaften, vorhanden ist (Rzhepishevska *et al.*, 2013). Ein großes Problem in den gegenwärtigen Forschungen ist die enorme Menge an verschiedenen Methoden um Eigenschaften, Auswirkungen und Leistungen von dentalen Materialien sowie Mechanismen von verschiedenen Bakterien und Biofilmen, zu testen (Cazzaniga *et al.*, 2015). Hinzu kommt eine fehlende Konstanz der Protokolle und der experimentellen Versuchsaufbauten (Cazzaniga *et al.*, 2015). Daher wurde bei der vorliegenden Arbeit, darauf geachtet, aus den vorangegangenen experimentellen Studien den bestmöglichen Versuchsaufbau für die Untersuchung unserer Hypothese zu gestalten und akribisch zu protokollieren.

Bei der Herstellung der Probenkörper wurde auf eine standardisierte Herstellung geachtet. Allein die maximale Schichtstärke und die minimale Polymerisationszeit wurden je nach Material an die Herstellerangaben angepasst, um für jedes Komposit und Compomer die optimalen Eigenschaften zu erhalten. Die darauffolgende Ausarbeitung und Politur wurde bei jedem Probenkörper in gleicher Weise durchgeführt.

Die Korrelation zwischen der Oberflächenrauheit und der bakteriellen Adhäsion wurde schon vor einiger Zeit bewiesen und konnte seither immer wieder bestätigt werden (Cazzaniga *et al.*, 2015; Quirynen und Bollen, 1995; Teughels *et al.*, 2006). Die Autoren Carlén und Mitarbeiter untersuchten unter anderem Unterschiede in der Plaqueretention an Kompositen in unpoliertem und poliertem Zustand. Hier wurde betont, dass es durch eine Politur der Probenkörper zu wesentlich höheren Werten der Oberflächenrauheit R_a und der Plaqueformation kam (Carlen *et al.*, 2001). Dabei ist jedoch zu beachten, dass die Probenkörper zwischen Plastikstreifen (Odus-universal-strips, Odus Dental AG, Dietikon-Zürich, Schweiz) polymerisiert wurden.

Ein Prozess welcher bekannt dafür ist, präzise und glatte Oberflächen zu schaffen (Bollen *et al.*, 1997; Yap *et al.*, 2004). Wird solch eine Plastikmatrix nicht verwendet, ist die Polymerisation der äußersten Schicht jedoch inhibiert und dies führt zu einer „weicheren und klebrigeren“ Konsistenz (Magdy *et al.*, 2017). Eine spätere Studie von Ionecso und Mitarbeitern hingegen, verglich die Oberflächenrauheit von mehreren Kompositen, einerseits nach Politur und andererseits nach Polymerisation gegen einen Maylar strip. Hierbei konnte beobachtet werden, dass die R_a Werte der beiden Herstellungsmethoden, bis auf ein Material, keinen signifikanten Unterschied aufwiesen. Durch eine Studie von Ono und Mitarbeitern konnte zusätzlich gezeigt werden, dass durch eine korrekte Politur (in diesem Fall, mit einer diamantierten Polierpaste mit einer Partikelgröße von 1 µm) bei allen getesteten Kompositen, eine Oberflächenrauheit von R_a =0,22-0,25 µm erzielt werden konnte (Ono *et al.*, 2007). Dies liegt knapp über dem von Bollen und Mitarbeitern festgelegten Schwellenwert von R_a=0,2 µm, ab welchem mit keiner weiteren Verringerung der bakteriellen Adhäsion zu rechnen sei (Bollen *et al.*, 1997) (siehe *Kapitel 1.3.2. Oberflächenrauheit*).

Einig sind sich jedoch viele Autoren darin, dass die veränderte Rauheit nach Politur maßgeblich von dem verwendeten Kunststoff und dessen Matrixzusammensetzung, Füllergehalt, -größe und/oder -form, abhängig ist (Ionescu *et al.*, 2012; Magdy *et al.*, 2017; Ono *et al.*, 2007; Yap *et al.*, 2004).

Da die möglichen Effekte der Nachvergütung von Kompositen schon in mehreren Studien erörtert wurden und sich die vorliegende Arbeit nicht diesem Thema widmet, wurde beschlossen ein standardisiertes Polierverfahren für alle Probekörper herzustellen, ebenfalls mit dem Hintergedanken, dass es klinisch keine wirkliche Alternative zur Politur von Komposit- und Compomerfüllungen gibt, um Ästhetik und Funktion der Restaurationen zu verbessern. In Anbetracht der Größe der anorganischen Füller, der von uns gewählten Materialien, gibt es nur geringe Unterschiede (siehe *Tabelle 4*). Mit der von uns gewählten Methode der Politur, gehen wir davon aus, die Ra-Werte aller Materialien maßgeblich verringert und einander angenähert zu haben. Dennoch wäre eine genaue Untersuchung der Ra-Werte all unserer Probenkörper in einer weiteren wissenschaftlichen Arbeit von Interesse.

Wie bereits mehrmals erwähnt, werden die physiochemischen Eigenschaften eines Substrats durch die Pellikel an die Oberfläche weitergeleitet (Teughels *et al.*, 2006) und innerhalb der Pellikel spielen deren Komponenten eine wichtige Rolle in der Adhäsion von Bakterien (Hannig und Hannig, 2009) (siehe *Kapitel 1.2.1. Plaqueentstehung*) . An dieser Stelle möchten wir jedoch betonen, dass es immer wieder Studien gibt, welche vorhandene Ungereimtheiten bezüglich des Einflusses der Pellikel auf die Adhäsion von Bakterien aufweisen: Ahn und Mitarbeiter haben unter anderem die Adhäsion von *Streptococcus mutans* an unterschiedliche direkte Füllungsmaterialien (Komposite, kunststoffverstärkte Glasionomerzemente RMGIC und einem Compomer) untersucht. Dabei haben sie bei jeweils einer Versuchsreihe die Probenkörper in Speichel inkubiert und bei einer Kontroll-Versuchsreihe die Probenkörper in phosphatgepufferte Salzlösung inkubiert. Beim Vergleich der Adhäsion von Streptokokken konnte kein signifikanter Unterschied in der Menge an Bakterien zwischen den Probenkörpern mit und zu denen ohne Pellikel festgestellt werden (Ahn *et al.*, 2010). Tanner und Mitarbeiter hingegen, zeigten mit ihrer Studie, dass eine aufgelagerte Pellikel zu einer Verringerung der bakteriellen Adhäsion von *S.mutans* führte (Tanner *et al.*, 2000).

Mit diesem Vorwissen wurde beschlossen einen Versuchsaufbau ohne natürlichen Speichel zu erstellen, um so mögliche Verfälschungen und Verringerungen der Adhäsion auszuschließen. Somit kann in der vorliegenden Studie nur an Hand von vorangegangenen Studien abgeschätzt werden, welchen Einfluss die Anwesenheit einer Pellikel auf die Adhäsion der Bakterien gehabt hätte. Da die Interaktionen zwischen den Komponenten der Pellikel und den Bakterien in großen Teilen noch immer unerforscht sind, versprachen wir uns durch einen solchen Versuchsaufbau mit Entfallen einer weiteren beeinflussenden Variable, eine leichtere und genauere Interpretation der Ergebnisse. In zukünftigen Studien wäre eine weitere Erforschung dieser Thematik wünschenswert.

Viele wissenschaftliche Arbeiten betonen die Komplexität oraler Biofilme (Elias und Banin, 2012; Flemming *et al.*, 2016), auch hinsichtlich des Adhäsionsmechanismus eines gemischten Biofilms zu Oberflächen und der Beeinflussung verschiedener Bakterien untereinander (siehe *Kapitel 1.2.1.4. Kolonisation).* Unter diesem Augenmerk wird die Meinung vertreten, dass nur Multi-Spezies-Modelle einen genauen Aufschluss über den Umfang interbakteriellen Interaktionen und deren

Auswirkungen auf die Biofilmformation liefern können. Wiederum andere wissenschaftliche Arbeiten (Rzhepishevska *et al.*, 2013) nehmen genau diese Komplexität als Anlass zu sagen, dass gut ausgeführte Versuche, mit konstanten Konditionen und definierten Bakterien (Mono-Spezies-Modelle) nötig sind um die Überlegenheit einzelner Materialien beurteilen zu können.

Da das Hauptaugenmerk dieses Versuchs auf dem Hervorheben von materialbedingten und bakterienabhängigen Unterschieden der akkumulierten Plaquemenge liegt, wurde ein Mono-Spezies-Modell bevorzugt. Diese Überlegung wird ebenso vertreten von Ilie und Mitarbeitern, welche festhalten, dass es wichtig sei, auf Grund der schieren Menge an kommerziell erhältlichen restaurativen Materialien, alle diese unter identischen Voraussetzungen zu untersuchen (Ilie und Hickel, 2011). Bei unserem Versuchsaufbau wurde darauf geachtet, einen maximalen Wert an Informationen zu erlangen, ihn jedoch gleichzeitig so simpel zu gestalten, dass eine Reproduktion jederzeit möglich wäre. Dabei wurde mit jedem Bakterienstamm einzeln und isoliert gearbeitet. So konnte jedes Bakterium unter den jeweils optimalen Bedingungen getestet und beobachtet werden. Ebenso konnten Verfälschungen der Werte, durch Wechselwirkungen oder Konkurrenz mit anderen Bakterienstämmen, ausgeschlossen werden. Die Wahl eines Mono-Spezies-Test konnte eine vergleichsweise einfache Durchführung gewährleisten und somit auch eine Standardisierung des Versuchs, sowie eine einfache Reproduzierbarkeit.

In Anbetracht dieses Wissens sollen die Ergebnisse der gegenwärtigen Studie nur innerhalb ihrer Rahmenbedingungen beurteilt werden. Somit müssen auch Einschränkungen der Studie beachtet werden, wie den in vitro Versuchsaufbau mit einem Mono-Spezies-Modell, ohne die vorherige Auflagerung einer Pellikel. Nichtsdestotrotz erlauben uns gerade diese Verhältnisse, die Adhäsion von drei verschiedenen Bakterien an sieben Materialien, in einem für Bakterien optimierten Raum, zu bewerten.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie erlauben keinesfalls eine einfache Bestätigung oder Ablehnung der Versuchshypothesen. In der Fragestellung wurde angenommen, dass auf Grund der vielen verschiedenen materialbedingten Eigenschaften und der spezifischen Adhäsions- und Kolonisationsmechanismen von Bakterien, ein Unterschied in den Plaqueretentionsraten zu beobachten sei (siehe

oben). Viel eher bestätigt diese Studie die Beobachtung, dass die Adhäsion und Formation von Biofilmen auf desquamationsfreien Oberflächen ein komplexes Gebiet, mit schwer vorhersehbaren Resultaten, darstellt.

Daraus lässt sich mit den von uns durchgeführten Versuchen bestätigen, dass es mehr oder weniger stark ausgeprägte Unterschiede bei der Adhäsion von verschiedenen Bakterien an das gleiche Substrat gibt. Auffällig dabei ist, dass *Actinomyces naeslundii* und *Veillonella parvula* ähnlichere Adhäsionsmengen zeigen, ohne signifikanten Unterschied (p = 0,176) in ihrer Adhäsion zu den getesteten Materialien. Bei dem Vergleich der Adhäsion von *Streptococcus mutans* konnte jeweils ein signifikanter Unterschied zu der Adhäsion von *A. naeslundii* (p < 0,000) und *V. parvula* (p < 0,000) festgestellt werden. Aus diesen Daten schlussfolgern wir, dass nicht alleine die physiochemischen Eigenschaften des Substrats die Menge an adhärenten Mikroorganismen bestimmt, sondern auch die Spezies selbst ausschlaggebend ist.

Dies geht einher mit dem lange bekannten Wissen über die hohe Selektivität der bakteriellen Adhäsion an Oberflächen im Mund (Gibbons, 1989), welche zwischen spezifischen extrazellulären proteinreichen Komponenten (Adhäsine) der Organismen und komplementären Rezeptoren auf Oberflächen vermittelt wird (Teughels *et al.*, 2006). Dabei betonten Gibbons und Mitarbeiter, dass Unterschiede in der Menge an adhärenten Organismen, an zwei separaten Mechanismen festzumachen seien. Ersteres von beiden ist die Adsorption zur Oberfläche – ein schneller und selektiver Prozess, welcher abhängig ist, von den Komponenten des Bakteriums und der Komposition der Pellikel beziehungsweise der Oberfläche. Letzteres umfasst die Koaggregation und Kohäsion weiterer Organismen – ebenso selektiv wie der vorherige Mechanismus (Gibbons und van Houte, 1973). Bloomquist und Mitarbeiter betonen, dass ein rapider Anstieg der Masse auf Zellteilungen innerhalb der ersten 24 Stunden der Biofilmformation, zurückzuführen ist (Bloomquist *et al.*, 1996).

Solche quantitativen Unterschiede konnten in einer Studie von Dige und Mitarbeitern veranschaulicht werden. Hier wurden Probenkörper aus Glas angefertigt und über 48 Stunden von mehreren Probanden intraoral getragen. Nach 6, 12, 24 und 48 Stunden wurden jeweils die Mengen an *S. mutans* und *A. naeslundii* evaluiert. So

konnte ein Vergleich zwischen den Bakterien und jeweils eine zeitliche Veränderung der Quantität festgestellt werden. Die Autoren vermerkten, dass sich die Zeiten, welche die beiden Bakterienarten benötigten um die Substratoberfläche zu bedecken, beträchtlich voneinander unterscheiden, und *A. naeslundii* ein tendenziell langsameres Wachstum aufwies (wenngleich ohne signifikanten Unterschied: paired t-Test p = 0,07) (Dige *et al.*, 2009). Obwohl Unterschiede in der Menge an adhärenten Bakterienspezies auch mit den Ergebnissen dieser Studie einhergehen, wurden in unserer Studie weitaus größere Mengen an *A. naeslundii* als an *S. mutans* festgestellt. Diese gegenteiligen Werte könnten an den sehr unterschiedlichen Versuchsaufbauten liegen und an der damit verbundenen Schwierigkeit, Werte einer *in vivo* Studie, mit denen einer *in vitro* Untersuchung zu vergleichen. Ebenso ist eine Gegenüberstellung solcher Ergebnisse schwierig, da in einem *in vitro* Versuch mit Mono-Spezies-Modellen, jegliche Parameter optimiert und an ein Bakterium angepasst werden können, und eine Beeinflussung durch weitere Bakterien ausgeschaltet wird. Weitere Beispiele in der Literatur findet man in Studien, welche zeigten, dass die Sangius Art der Streptokokken besser an Oberflächen bindet als Mutans (Rosan und Lamont, 2000). Ebenso einen Unterschied erkannten Ahn und Mitarbeiter in ihrer Studie. Sie untersuchten SR und SFE im Zusammenhang mit der Adhäsion von *S. mutans* und *S. sobrinus* und stellten fest, dass die generelle Adhäsionsmenge von *S. mutans* signifikant größer war als jene von *S. sobrinus* (Ahn *et al.*, 2010).

Weiterführend konnte die vorliegende Studie nun zusätzliche Informationen über die unterschiedlichen Adhäsionsmuster von *A. naeslundii, S. mutans,* und *V. parvula* im Vergleich liefern. Innerhalb der Versuchsreihe mit *A. naeslundii* zeigten die sieben Materialien insgesamt fünf signifikante Unterschiede in der Menge an adhärenten Bakterien. Bei den Versuchsreihen mit *S. mutans* und *V. parvula* war es jeweils nur ein signifikanter Unterschied. Bei Betrachtung der erhaltenen Werte liegt die Vermutung nahe, dass *A. naeslundii* wesentlich stärker von den Eigenschaften des Substrats, in dessen Adhäsion beeinflusst wird. Auch zu beobachten war, dass obwohl *S. mutans* und *V. parvula* beide relativ einheitliche Adhäsionsmuster zu den jeweiligen Probenkörpern zeigten, sie dennoch substratabhängige Unterschiede in ihrer Adhäsion aufzeigten. Dies lässt vermuten, dass die beiden Bakterienarten von unterschiedlichen Substrateigenschaften mehr oder weniger stark beeinflusst

wurden. Solch einen Unterschied im Verhalten von Bakterien konnten unter anderem auch Mei und Mitarbeiter feststellen, welche die Adhäsionskraft von *S. mutans* und *S. sanguinis* in Abhängigkeit von der Rauheit verschiedener Komposite untersuchten und verglichen. Dabei zeigte sich, dass eine steigende Rauheit der Kompositoberfläche die Adhäsionskraft von *S. sanguinis* stärker beeinflusste als die Adhäsionskraft von *S. mutans* (Mei *et al.*, 2011). Auch Ionescu und Mitarbeiter vermuteten auf Grund ihrer Studie, dass die chemische Zusammensetzung eines Substrats, verschiedene Auswirkungen auf die Biofilmformation haben könnte, je nach getesteten Mikroorganismen (Ionescu *et al.*, 2015).

Mit Hilfe dieser vorangegangenen Untersuchungen und den von uns erhaltenen Daten zu den unterschiedlichen Adhäsionsmustern von Bakterien zum gleichen Substrat, konnte geschlussfolgert werden, dass nicht nur materialspezifische Eigenschaften, sondern auch bakterielle Eigenschaften die Adhäsion an Substraten maßgeblich beeinflussen. Darüber hinaus scheinen alle Bakterien ein für sie spezifisches Adhäsionsmuster aufzuweisen. Es wird davon ausgegangen, dass die physiochemischen Eigenschaften dentaler Materialien keinen einheitlichen Effekt auf Mikroorganismen haben, welcher universell auf alle Bakterienarten übertragen werden kann. Viel eher können die materiellen Gegebenheiten, je nach Bakterium, einen stärkeren oder schwächeren Effekt in deren Adhäsion und Kolonisation hervorrufen.

Die Wahl *S. mutans* zu verwenden, um einen Biofilm zu produzieren, basiert auf der Erkenntnis, dass *S. mutans* ein wichtiger ätiologischer Faktor in der Entstehung von dentaler Karies ist. Die Fähigkeit an feste Oberflächen, wie Zähne oder restaurative Werkstoffe zu binden und einen Biofilm zu bilden, wird mit der Entstehung von Sekundärkaries in Verbindung gebracht (Krzysciak *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2011). Auch in ausgereiften Biofilmen ist *S. mutans* zu großen Teilen vertreten (Dige *et al.*, 2009).

In der vorliegenden Studie konnten in Bezug auf die erhaltenen Werte, für die Adhäsion von *S. mutans* an die unterschiedlichen Kompositen, abgesehen von Capo Slow Flow zu NanoPaq ($p = 0{,}002$), keine signifikanten Unterschiede zwischen den restlichen Materialien gefunden werden. Dabei zeichnete sich Capo Slow Flow durch

eine geringere Menge an gebildeten Kolonien aus, und NanoPaq stach durch die höchste Menge an geformten Kolonien heraus.

Die Eigenschaft von *S. mutans,* keine gravierenden Unterschiede in ihrer Adhäsion zu mehreren verschiedenen Materialien aufzuzeigen, konnte auch von anderen Autoren erkannt werden. Montanaro und Mitarbeiter untersuchten die Adhäsion von *S. mutans* an Komposite unterschiedlicher Klassifikation, an Glasionomerzemente und an ein Compomer. Abgesehen von einem GIZ und einem Ormocer wichen die Werte der untersuchten Werkstoffe nicht signifikant von einer Polystyrol Kontrollgruppe ab (Montanaro *et al.*, 2004). Auch Ahn und Mitarbeiter betonten, dass die Menge an adhärenten *S. mutans* innerhalb einer Materialklasse sehr einheitlich blieb. Erst im Vergleich mit anderen Materialien (RMGIC und Compomere im Vergleich zu Kompositen) konnten Unterschiede in der Adhäsion festgestellt werden (Ahn *et al.*, 2010). Wir können uns nun, mit den von uns durchgeführten Versuchen, an vorherige Studien anschließen und deren Beobachtungen teilen. Man kann davon ausgehen, dass *S. mutans* in seiner Adhäsion zu einer Materialklasse, nur in geringem Maße von den Substrateigenschaften beeinflusst wird. Erst durch den Vergleich mit anderen dentalen Füllungswerkstoffen und damit maßgeblicheren Differenzen in den Materialeigenschaften, kann in vorangegangenen Studien eine Veränderung der Adhäsion festgestellt werden.

Vergangene Studien haben einen Vergleich der bakteriellen Adhäsion von *S. mutans* zu den unterschiedlichsten dentalen Werkstoffen ermöglicht. Aus einem Mangel an vergleichbaren Studien, mit den von uns verwendeten Bakterien *A. naeslundii* und *V. parvula,* geben die von uns erhaltenen Werte erstmalig Einblick in ein bisher wenig erforschtes Gebiet.

Die weitere Auswahl von *A. naeslundii* für die Versuchsdurchführung lag für uns nahe, da *A. naeslundii* als ein signifikanter Mitspieler der frühen Kolonisation von Oberflächen in der Mundhöhle bekannt ist. Innerhalb eines Biofilms wird er vor allem in Schichten nahe der Substratoberfläche gefunden und wird oft mit der Koaggregation weiterer Mikroorganismen in Verbindung gebracht (Dige *et al.*, 2009). Weiters zeichnet sich *A. naeslundii* dadurch aus, Laktat als einen Kohlenstofflieferanten für sein Wachstum zu verwenden und besitzt außerdem die

Fähigkeit Sauerstoff aus der Umgebung zu entfernen und ein anaerobes Milieu zu schaffen (Takahashi und Yamada, 1996).

Wie bereits oben angeschnitten, zeigt die Adhäsion von *A. naeslundii* ein bei weitem nicht so einheitliches Bild in Bezug auf seine Adhäsion wie *S. mutans* oder *V. parvula.* Es wird davon ausgegangen, dass *A. naeslundii* in dessen Adhäsion stärker von den physiochemischen Eigenschaften des Substrats abhängig ist. Die beiden Nano-Hybrid Komposite Tetric EvoCeram (signifikanter Unterschied zu Tetric EvoFlow p = 0,022) und NanoPaq (signifikante Unterschiede zu Capo Bulk FIll p = 0,047, Dyract p = 0,013, Tetric EvoFlow p = 0,000) und einer der Bulkfill Komposite SDR flow+ (signifikanter Unterschied zu Tetric EvoFlow p = 0,016) erwiesen sich als die Kunststoffe mit den höchsten Adhäsionsmengen. Die Gruppe der Flowables mit Capo Slow Flow und Tetric EvoFlow und das Compomer Dyract eXtra schnitten in der Versuchsreihe mit *A. naeslundii* vergleichsweise gut ab. Damit zeigt sich ein Trend von gruppenabhängigen Unterschieden innerhalb der Komposite und keine signifikanten Unterschiede innerhalb einer Gruppe. Zukünftige Studien könnten diesen Trend weiter erforschen und ein besseres Bild der Adhäsion von *A. naeslundii* zeigen.

V. parvula ist als prävalenter und prädominanter Mikroorganismus sowohl in supra- als auch in subgingivaler Plaque bekannt (Liu *et al.*, 2011). Die Fähigkeit sich an saure Milieus anzupassen und das von anderen Bakterien produzierte Laktat als Kohlenstofflieferant zu verwerten, zeichnet *V. parvula* aus und macht ihn zu einem wichtigen Mitspieler in der Bildung und Reifung von Multispezies-Biofilmen (Jakubovics, 2015). Zahlreiche molekulare Studien konnten *V. parvula* sowohl mit dentaler Karies (Al-Ahmad *et al.*, 2010; Al-Ahmad *et al.*, 2007; Becker *et al.*, 2002) als auch mit parodontalen Erkrankungen (Socransky und Haffajee, 2002) in Verbindung bringen. Trotz seiner wichtigen Rolle in oralen Erkrankungen ist im Vergleich zu anderen oralen Mikroorganismen recht wenig über die Biologie und die Mechanismen von *V. parvula* bekannt. Aus diesem Grund war es für uns wichtig weiteres Wissen über dieses Bakterium in Erfahrung zu bringen.

Die Ergebnisse der Versuchsreihe mit *V. parvula* lassen an das Adhäsionsmuster von *S. mutans* erinnern. Die Adhäsionsmengen sind sehr einheitlich mit nur geringen Unterschieden zwischen den verschiedenen Materialien. Nur SDR flow+ sticht als

das am stärksten kontaminierte Material hervor. Signifikanz besteht aber nur zu Dyract eXtra. Dies leitet uns zu der Annahme, dass auch *V. parvula* nur in geringem Maße von den Eigenschaften des darunterliegenden Substrates beeinflusst wird, wie es auch bei *S. mutans* der Fall zu sein scheint.

In Bezug auf die vermehrte Adhäsion von *S. mutans* und *A. naeslundii* zu NanoPaq, wären weitere Untersuchungen wünschenswert. Eine ursächliche Vermutung unsererseits, liegt unter anderem in der Steifigkeit des Materials, welches mit 18000 MPa weit über den anderen getesteten Materialien liegt (siehe *Tabelle 4*) und somit die Adhäsion von *S. mutans* positiv beeinflussen könnte. Dies geht einher mit der von Lichter und Mitarbeitern beobachteten positiven Korrelation zwischen E-Modul des Substrats und der Adhäsion von *S. epidermidis.* Sie bezeichneten diesen Zusammenhang als einen mechanoselektiven Adhäsionsmechanismus und fassten zusammen, dass die Steifigkeit polymerer Substanzen die Adhäsion lebensfähiger Bakterien in wässrigen Suspensionen modulieren kann, unabhängig von anderen Interaktionen an den Grenzflächen zwischen Bakterium und Material (Lichter *et al.*, 2008). Somit wäre eine Beeinflussung von *S. mutans* und *A. naeslundii* durch das hohe E-Modul von NanoPaq eine mögliche Erklärung für die von uns verzeichneten Adhäsionswerte.

In der methodischen Diskussion ist bereits auf die R_a-Werte, und deren Veränderung durch die durchgeführte Politur, eingegangen worden. Dies wollen wir nun in Anbetracht der Beeinflussung der bakteriellen Adhärenz durch Unterschiede der durchschnittlichen Füllergröße, weiter ausführen. Wie bereits oben beschrieben gehen wir davon aus, die Rauheit der hergestellten Probenkörper, durch die Politur, maßgeblich verringert zu haben und in die Nähe des von Bollen und Mitarbeitern postulierten Schwellenwerts von R_a=0,2 µm (Bollen *et al.*, 1997), gebracht zu haben, wie in vorhergegangenen Studien bereits beschrieben (Ono *et al.*, 2007). Da jedoch keine explizierte Untersuchung der Oberflächenrauheit durchgeführt wurde, können wir Ausnahmen, wie von Ionescu und Mitarbeitern beschrieben, nicht ausschließen. Hier wurde ein Nano-Hybrid-Komposit durch eine stark erhöhte Rauheit nach der Politur auffällig. Bei genaueren Untersuchungen mit Hilfe eines Rasterelektronenmikroskops konnten in der Oberfläche große Agglomerationen an Füllern gefunden werden. Die Autoren vermuteten daraufhin, dass durch eine Politur die unregelmäßig geformten Füllerpartikel und besonders die Agglomerationen aus

der organischen Matrix gerissen wurden und dies somit für die hohe Rauheit und folglich stärkere Plaqueretention verantwortlich sei (Ionescu *et al.*, 2012). Auch Magdy und Mitarbeiter beobachteten, dass das Herausreißen von großen unregelmäßigen Füllern zu einer erhöhten Rauheit der Materialoberfläche führen kann (Magdy *et al.*, 2017). Auf Grund solcher Untersuchungen und den von uns beobachteten Plaqueretentionsraten, erachten wir das Auftreten eines solchen Phänomens bei dem Nano-Hybrid-Komposit NanoPaq für sehr wahrscheinlich.

Eine weitere Beeinflussung der bakteriellen Adhärenz durch Füller, wurde auch in dem Füllstoffgehalt von Kompositen vermutet. Faltermeier und Mitarbeiter untersuchten die Adhäsionsmenge von *S. mutans* zu drei experimentell hergestellten UDMA-Kompositen mit unterschiedlichen Füllerfraktionen (ungefüllt, 35 Vol.-% Siliciumdioxid und 70 Vol.-% Siliciumdioxid) und zwei im Handel erhältlichen kieferorthopädischen Kompositen. Dabei stellten sie fest, dass obwohl Siliciumdioxide die Mikrostruktur von Kompositen durchaus beeinflussen können, keine statistische Korrelation zwischen Füllerfraktion und Adhäsionsintensität erkannt werden konnte (Faltermeier *et al.*, 2007). Somit liegt bei unserer Versuchsreihe mit *S. mutans* auch ein Ausschluss der Beeinflussung durch die Füllerfraktion der getesteten Materialien nahe. Trotz des recht eindeutigen Ergebnisses der erwähnten Studie von Faltermeier und Mitarbeitern, muss man beachten, dass nur der Zusammenhang zwischen der Füllerfraktion von UDMA-Kompositen und einem Bakterium untersucht wurde. Weitere Untersuchungen mit den von uns verwendeten Bakterien und Kompositen könnten hier von Nutzen sein.

Ein weiterer möglicher Faktor, welcher die Adhäsion zu den getesteten Materialien beeinflussen kann, ist die Menge an unpolymerisierten Monomeren. Alle Probenkörper wurden nach Polymerisation und Politur in destilliertem Wasser gelagert, um die Eluation von ungebundenen Monomeren vor Versuchsbeginn zu gewährleisten. Dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass geringe Mengen an unpolymerisierten Monomeren aus den verschiedenen Matrixzusammensetzungen gelöst wurden und Einfluss auf die darauffolgende Biofilmformation genommen haben. Insbesondere wenn man beachtet, dass auch Mikroorganismen wie *S. mutans* in der Lage sind Komposite durch enzymatische Aktivität abzubauen (Santerre *et al.*, 2001).

Frühere Studien konnten schon Aufschluss über einige der Auswirkungen der Inhaltsstoffe von Kompositen auf die Biofilmformation liefern (Bourbia und Finer, 2018; Kawai und Tsuchitani, 2000; Khalichi *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2009). Beispielhaft dafür ist das TEG aus TEGDMA, welches sowohl das Wachstum von *S. mutans* fördern kann, als auch dessen Genexpression beeinflussen und so die Virulenz steigern kann (Singh *et al.*, 2009).

Geht man von diesem Wissen aus, könnte man annehmen, dass Materialien mit TEGDMA in deren Matrix (wie SRF flow+ und Dract eXtra), höhere Adhäsionswerte von *S. mutans* aufweisen. Diese Erwartung konnte jedoch nach Versuchsdurchführung nicht von uns bestätigt werden. Gründe für unsere Beobachtung könnten darin liegen, dass die Menge an gelöstem TEG, aufgrund der vorhergegangenen Lagerung, tatsächlich zu gering war, um einen signifikanten Effekt auszulösen oder dass die Adhäsion von *S. mutans* von den anderen Eigenschaften des Substrats stärker beeinflusst wird, als von den Inhaltsstoffen des TEGDMA. Weitere Studien könnten hier Aufschluss, über den zeitlichen Verlauf, der in Lösung gehenden Menge an TEG von in Flüssigkeit gelagerten Kompositen, liefern. Dies könnte eine genauere Interpretation unserer Ergebnisse ermöglichen.

Auch zu beachten sind gewisse Ungereimtheiten, welche noch immer im Effekt der Eluate auf gewisse Mikroorganismen bestehen. Kawai und Tsuchitani konnten im Vergleich zu oben erwähnten Studien, zwar keine veränderte Genexpression, jedoch eine erhöhte enzymatische Aktivität der Glycosyltransferase in *S. sobrinus,* nach Expositioin gegenüber TEGDMA und Diglycidylmethacrylat feststellen (Kawai und Tsuchitani, 2000). Hansel und Mitarbeiter konnten zeigen, dass EGDMA und TEGDMA das Wachstum von *S. sobrinus* und *L. acidophilus* stimulierten, Bis-GMA führte jedoch zu einer Inhibition im Wachstum von *L. acidophilus* (Hansel *et al.*, 1998). Aus diesen vielen Studien, mit teils unterschiedlichen Erkenntnissen schlussfolgerten Bourbia und Mitarbeiter, dass verschiedene Inhaltsstoffe aus Kompositen jeweils unterschiedliche Effekte auf Mikroorganismen haben, und dass diese auch abhängig sind von der Bakterienart (Bourbia und Finer, 2018).

Die positive Korrelation zwischen SFE und initialer bakterieller Adhäsion konnte in mehreren Studien verdeutlicht und immer wieder bestätigt werden (Ahn *et al.*, 2010; Ionescu *et al.*, 2012; Quirynen *et al.*, 1990). Die Überlegung, dass SFE vor allem die

initiale Adhäsionskraft beeinflusst, legt nahe, dass im Laufe der Biofilmformation die SFE eine immer geringere Rolle spielt (Busscher *et al.*, 2010). Dies wird auch von der bereits erwähnten Studie von Quireynen und Mitarbeitern unterstützt, in welcher eine Veränderung der SFE nach sechs Tagen Biofilminkubation keinen signifikanten Unterschied in der Menge der bakteriellen Adhärenz hervorruft (siehe Kapitel 1.3.2.: Oberflächenrauheit) (Quirynen *et al.*, 1990). Dennoch konnten Versuche von Ionescu und Mitarbeitern zeigen, dass die SFE auch nach 96 Stunden Biofilmformation zu einer Veränderung der Adhäsion von *S. mutans* führte und sie betonte, dass die Zusammensetzung und Nachvergütung der Füllungsmaterialien dabei eine große Rolle spielten (Ionescu *et al.*, 2012). Da in den von uns durchgeführten Versuchen, Probenkörper auch über einen ähnlich langen Zeitraum mit Bakterien inkubiert wurden, könnte eine mögliche Beeinflussung durch SFE durchaus im Bereich des Möglichen liegen. Die Erfassung der SFE unserer getesteten Komposite und Compomere wurde in der vorliegenden Studie nicht durchgeführt. Dennoch gehen wir davon aus, dass es durch die Politur der Probenkörper zu einer Verringerung der SFE kam, wie von Ionescu und Mitarbeitern beschrieben (Ionescu *et al.*, 2012). Weitere Versuche, welche die Aspekte der SFE in Zusammenhang mit der chemischen Zusammensetzung und Nachvergütung dentaler Materialien erforschen wären wünschenswert. Sie könnten Aufschluss über die Adhäsion von verschiedenen Bakterien an Oberflächen mit variierenden SFE geben.

In einer Gegenüberstellung von Kompositen und Compomeren könnte man, auf Grund der Fluoridfreisetzung von Compomeren, eine geringere bakterielle Last erwarten (Fluoridfreisetzung von Dyract eXtra 0,8 µg/cm^2 pro Woche über eine getestete Zeit von 20 Wochen -laut Herstellerangaben). Immerhin hat sich die Wissenschaft schon seit einiger Zeit mit den möglichen Effekten fluoridfreisetzender Materialien, auf das Wachstum und die Vitalität bakterieller Organismen, auseinandergesetzt. Dabei konnte immer wieder ein antimikrobieller Effekt durch solche Materialien aufgezeigt werden (Friedl *et al.*, 1997; Meiers und Miller, 1996). Fluoride können als Puffer fungieren und die durch Bakterien produzierten Säuren neutralisieren und das Wachstum von kariogenen Mikroorganismen unterdrücken (Auschill *et al.*, 2002).

Gegenteilige Meinungen finden sich in Studien mit neu getesteten Materialien. In einer Studie von Ozdemir-Ozenen und Mitarbeitern wurden acht verschiedene

Materialien, darunter GIZ, RMGIC, ein Komposit und ein Compomer und der Zusammenhang von deren Fluoridfreisetzung und antibakteriellen Effekten getestet. Dabei konnte nur eines der acht getesteten Materialien (Vitremer 3M ESPE, St. Paul, Minesota, USA) das Wachstum von *S. mutans* über 48 Stunden nach dem Anmischen, inhibieren. Alle anderen getesteten Materialien konnten solch einen Effekt nicht vorweisen (Ozdemir-Ozenen *et al.*, 2013). Eine ähnliche Studie von Marczuk-Kolada und Mitarbeitern untersuchte Dyract AP (Dentsply DeTrey GmbH, Konstanz, Deutschland). Hier konnte nach sieben Tagen ein Maximum in der Fluoridfreisetzung festgestellt werden. An diesem Maximum war auch eine Inhibition des Wachstums von *S. salivarius* und *S. sanguis* festzustellen. Das Wachstum von *S. mutans* und *Lactobacillus casei* konnte jedoch nicht inhibiert werden (Marczuk-Kolada *et al.*, 2006). Ähnlich zu dieser Studie konnte auch bei uns in der Gegenüberstellung von Dyract eXtra mit allen anderen getesteten Kompositen, keine signifikante Verringerung der Menge an *S. mutans* festgestellt werden. Bei den Versuchsreihen mit *A. naeslundii* und *V. parvula* konnten hingegen signifikante Unterschiede vermerkt werden. Dabei ist jedoch zu beachten, dass ein signifikanter Unterschied in der Adhäsion von *A. naeslundii* von Dyract eXtra lediglich zu NanoPaq besteht ($p=0,013$), welcher seinerseits durch eine sehr hohe Adhäsion von *A. naeslundii* auffällt und auch zu anderen Kompositen ebenso signifikant höhere Bakterienmengen aufweist. Die Versuchsreihe mit *V. parvula* wiederum, zeigt für Dyract eXtra die geringste Menge an adhärenten Bakterien im Vergleich zu den restlichen Kompositen. Signifikant ist dieser Unterschied nur zu SDR flow+ ($p < 0,001$). Unsere Beobachtungen lassen eine Beeinflussung der bakteriellen Adhärenz hin zum Positiven, durch fluoridfreisetzende Materialien vermuten, wenn gleich nicht bei allen Bakterien. An dieser Stelle ist es auch interessant zu erwähnen, dass sich die mechanischen Eigenschaften von fluoridfreisetzenden Materialien im oralen Milieu, nachweislich verschlechtern (Moreau und Xu, 2010). Der kariostatische Effekt, durch die höheren Fluoridmengen in unmittelbarer Nähe zu fluoridfreisetzenden Restaurationen konnte bereits mehrfach nachgewiesen werden. Dennoch weisen klinische Studien widersprüchliche Daten im Hinblick darauf auf, ob fluoridfreisetzende Materialien im Vergleich zu Materialien ohne Fluoridfreisetzung auch Schutz vor Sekundärkaries bieten (Wiegand *et al.*, 2007).

Mit der von uns durchgeführten Studie war es uns ein Anliegen, das Verständnis und das Wissen zur Interaktion von zahnärztlichen Füllungswerkstoffen und bakteriellen Adhäsion zu verbessern. Wir rechnen auch damit, dass sich zukünftig weitere Studien mit einer größeren Vielfalt von Bakterienstämmen einzeln auseinandersetzen werden und deren Unterschiede aufzeigen werden. Dieses akquirierte Verständnis für die einzelnen Bakterienstämme, welche Teil eines Biofilms sind, soll als ein Grundstein dienen, um weiteres Wissen zu erlangen. So können auch zukünftige Versuche mit einem komplizierteren Aufbau, im Sinne eines Multi-Spezies-Modells oder in Anwesenheit einer Pellikel, leichter und akkurater zu interpretiert werden.

Auch im Bereich der Materialforschung sind weiterführende Untersuchungen nur zu erwarten. Wünschenswert wäre ein vollständiges Wissen über die Auswirkung der Füllerfraktionen oder einzelner Inhaltsstoffe, wie etwa TEG, auf verschiedene Bakterien. Ebenso von Interesse wäre es den genauen zeitlichen Verlauf der Abnahme der Beeinflussung der Plaqueretention durch die freie Oberflächenenergie darzustellen. Relevant wären auch zukünftige Untersuchungen, welche den Zusammenhang zwischen agglomerierten Nanopartikeln und einer erhöhten Oberflächenrauheit nach Politur darstellen.

Durch die Verwendung von derzeit am Markt erhältlichen und zahnärztlich gebräuchlichen Materialien konnten wir den aktuellen Stand der Füllungswerkstoffe darstellen. Somit wollen wir Kollegen zukünftig dazu anregen, die Wahl der von ihnen verwendeten Füllungsmaterialien, nicht alleine von ästhetischen Gesichtspunkten und der Handhabung des Materials abhängig zu machen, sondern viel eher auch von biologischen und mikrobiellen Aspekten, um somit eine möglichst langlebige und gesundheitlich vertretbare Versorgung unserer Patienten zu gewährleisten.

6 Zusammenfassung

In dieser *in vitro* Studie wurden insgesamt sieben direkte Füllungsmaterialien (sechs Komposite: Capo Bulk Fill, SDR flow+, Capo Slow Flow, Tetric EvoFlow, Tetric EvoCeram, NanoPaq; und ein Compomer: Dyract eXtra) auf deren Plaqueretention von drei verschiedenen Bakterienstämmen (*Streptococcus mutans, Actinomyces naeslundii* und *Veillonella parvula)* hin untersucht.

Komposite bzw. Compomere sind sehr beliebte und bewährte Werkstoffe für direkte Füllungen im zahnärztlichen Alltag. Wie aber bei jedem anderen Füllungsmaterial auch, muss man sich als Behandler der Schwächen des verwendeten Materials bewusst sein. Eine Problematik, welche Kompositfüllungen mit sich bringen, ist eine recht starke Plaqueretention, welche ihrerseits wieder zu möglichen Komplikationen wie Sekundärkaries und/oder parodontalen Erkrankungen führen kann. Ein umfassendes Verständnis über die recht vielseitigen Interaktionen zwischen oralen Mikroorganismen und den Oberflächen dentaler Füllungsmaterialien, soll dabei helfen die orale und allgemeine Gesundheit der Patienten zu optimieren.

Für die mikrobiologischen Versuche dieser Studie wurden von jedem zu testenden Material fünf Probenkörper laut Herstellerangaben produziert, gereinigt und bereitgestellt. Jeder Probenkörper wurde einzeln in einem Falcon mit Nährmedium und einem Bakterienstamm versetzt und für fünf Tage inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Probenkörper mit 0,9% NaCl abgespült, um nicht-adhärenten Bakterien zu entfernen. Im nächsten Schritt wurden die Probenkörper in einem Eppendorf Reaktionsgefäß mit 1000 µl 0,9% NaCl bereitgestellt und gevortext um die adhärenten Bakterien von dem Probenkörper zu lösen. Die entstandene Bakterien-NaCl-Suspension wurde danach in einer Verdünnungsreihe bis zur fünften Potenz verdünnt. Von jeder Verdünnung bis hin zur ersten Bakterien-NaCl-Suspension wurden 100 µl auf einer Agarplatte ausplattiert, und für 96 Stunden inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden auf allen Agarplatten die geformten Kolonien (CFU) ausgezählt und tabellarisch festgehalten. Somit konnten für jeden Werkstoff und jeden Bakterienstamm die CFU/ml ermittelt werden. Ein anschließender Vergleich der ermittelten Werte und eine statistische Auswertung wurde mittels SPSS durchgeführt.

Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass *Streptococcus mutans* im Vergleich zu den beiden anderen Bakterien *Actinomyces naeslundii* und *Veillonella parvula* in geringeren Mengen an die gleichen Substratoberflächen bindet, was in Übereinstimmung mit vorangegangen Studien steht, dass nicht alleine die physiochemischen Eigenschaften des Substrats ausschlaggebend ist, für die Menge an adhärenten Bakterien, sondern auch die bakterielle Spezies selbst. Abgesehen von den Unterschieden in den Adhäsionsmengen der einzelnen Bakterien, konnten auch verschiedene Adhäsionsmuster der jeweiligen Bakterien erkannt werden. Auch diesbezüglich können wir uns früheren Studien anschließen und zeigen, dass materielle Eigenschaften keinen einheitlichen Effekt auf die Adhäsion haben, welcher auf jeden Mikroorganismus übertragen werden könnte. *S. mutans* und *V. parvula* zeigten jeweils recht einheitliche Adhäsionswerte zu den getesteten Materialoberflächen und damit eine recht geringe Abhängigkeit der Adhäsionsmengen von den Substrateigenschaften. *A. naeslundii* zeigte stärkere Unterschiede der adhärenten Menge zu den getesteten Materialien und scheint daher von den unterschiedlichen physiochemischen Eigenschaften der Materialien stärker beeinflusst worden zu sein.

Diese Studie leistet einen Beitrag zum Verständnis der komplexen und vielseitigen Interaktion zwischen Oberflächen von direkten Füllungsmaterialien und oralen Mikroorganismen. Sie bietet einen direkten Vergleich von mehreren Füllungsmaterialien in Kombination mit drei Bakterienstämmen und gibt einen Einblick in die Adhäsionsmengen und -muster von zwei zuvor wenig erforschten Bakterien *A. naeslundii* und *V. parvula*. Um diese Studie jedoch besser einordnen zu können und auch zukünftig Füllungsmaterialien besser beurteilen zu können, sind weitere Untersuchungen nötig.

7 Literaturverzeichnis

1. Absolom DR. The role of bacterial hydrophobicity in infection: bacterial adhesion and phagocytic ingestion (1988). *Can J Microbiol* 34: 287-298.

2. Absolom DR, Lamberti FV, Policova Z, Zingg W, van Oss CJ, Neumann AW. Surface thermodynamics of bacterial adhesion (1983). *Appl Environ Microbiol* 46: 90-97.

3. Abu-Bakr N, Han L, Okamoto A, Iwaku M. Evaluation of the surface roughness of compomer by laser scanning microscopy (2001). *Dent Mater J* 20: 172-180.

4. Ahn SJ, Lim BS, Lee SJ. Surface characteristics of orthodontic adhesives and effects on streptococcal adhesion (2010). *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 137: 489-495; discussion 413A.

5. Al-Ahmad A, Roth D, Wolkewitz M, Wiedmann-Al-Ahmad M, Follo M, Ratka-Kruger P, Deimling D, Hellwig E, Hannig C. Change in diet and oral hygiene over an 8-week period: effects on oral health and oral biofilm (2010). *Clin Oral Investig* 14: 391-396.

6. Al-Ahmad A, Wunder A, Auschill TM, Follo M, Braun G, Hellwig E, Arweiler NB. The in vivo dynamics of Streptococcus spp., Actinomyces naeslundii, Fusobacterium nucleatum and Veillonella spp. in dental plaque biofilm as analysed by five-colour multiplex fluorescence in situ hybridization (2007). *J Med Microbiol* 56: 681-687.

7. Anselme K, Davidson P, Popa AM, Giazzon M, Liley M, Ploux L. The interaction of cells and bacteria with surfaces structured at the nanometre scale (2010). *Acta Biomater* 6: 3824-3846.

8. Aroonsang W, Sotres J, El-Schich Z, Arnebrant T, Lindh L. Influence of substratum hydrophobicity on salivary pellicles: organization or composition? (2014). *Biofouling* 30: 1123-1132.

9. Astvaldsdottir A, Dagerhamn J, van Dijken JW, Naimi-Akbar A, Sandborgh-Englund G, Tranaeus S, Nilsson M. Longevity of posterior resin composite restorations in adults - A systematic review (2015). *J Dent* 43: 934-954.

10. Augthun M, Brauner A. [Antibacterial effects of different dental alloys on bacteria of the oral microflora in vitro] (1988). *Dtsch Zahnarztl Z* 43: 869-873.

11. Auschill TM, Arweiler NB, Brecx M, Reich E, Sculean A, Netuschil L. The effect of dental restorative materials on dental biofilm (2002). *Eur J Oral Sci* 110: 48-53.

12. Badihi Hauslich L, Sela MN, Steinberg D, Rosen G, Kohavi D. The adhesion of oral bacteria to modified titanium surfaces: role of plasma

proteins and electrostatic forces (2013). *Clin Oral Implants Res* 24 Suppl A100: 49-56.

13. Barbosa RP, Pereira-Cenci T, Silva WM, Coelho-de-Souza FH, Demarco FF, Cenci MS. Effect of cariogenic biofilm challenge on the surface hardness of direct restorative materials in situ (2012). *J Dent* 40: 359-363.

14. Barclay CW, Spence D, Laird WR. Intra-oral temperatures during function (2005). *J Oral Rehabil* 32: 886-894.

15. Baumann MA, Beer R, Wolf HF. Endodontologie: Farbatlanten der Zahnmedizin. 2nd, 2007: Thieme, Stuttgart, New York.

16. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries (2002). *J Clin Microbiol* 40: 1001-1009.

17. Belibasakis GN, Charalampakis G, Bostanci N, Stadlinger B. Peri-implant infections of oral biofilm etiology (2015). *Adv Exp Med Biol* 830: 69-84.

18. Bellon-Fontaine MN, Mozes N, van der Mei HC, Sjollema J, Cerf O, Rouxhet PG, Busscher HJ. A comparison of thermodynamic approaches to predict the adhesion of dairy microorganisms to solid substrata (1990). *Cell Biophys* 17: 93-106.

19. Berglundh T, Armitage G, Araujo MG, Avila-Ortiz G, Blanco J, Camargo PM, Chen S, Cochran D, Derks J, Figuero E, Hammerle CHF, Heitz-Mayfield LJA, Huynh-Ba G, Iacono V, Koo KT, Lambert F, McCauley L, Quirynen M, Renvert S, Salvi GE, Schwarz F, Tarnow D, Tomasi C, Wang HL, Zitzmann N. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions (2018). *J Periodontol* 89 Suppl 1: S313-S318.

20. Beyth N, Bahir R, Matalon S, Domb AJ, Weiss EI. Streptococcus mutans biofilm changes surface-topography of resin composites (2008). *Dent Mater* 24: 732-736.

21. Bixler GD, Bhushan B. Biofouling: lessons from nature (2012). *Philos Trans A Math Phys Eng Sci* 370: 2381-2417.

22. Bloomquist CG, Reilly BE, Liljemark WF. Adherence, accumulation, and cell division of a natural adherent bacterial population (1996). *J Bacteriol* 178: 1172-1177.

23. Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature (1997). *Dent Mater* 13: 258-269.

24. Bos R, van der Mei HC, Busscher HJ. Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions--its mechanisms and methods for study (1999). *FEMS Microbiol Rev* 23: 179-230.

25. Bourbia M, Finer Y. Biochemical Stability and Interactions of Dental Resin Composites and Adhesives with Host and Bacteria in the Oral Cavity: A Review (2018). *J Can Dent Assoc* 84: i1.

26. Bowen WH, Burne RA, Wu H, Koo H. Oral Biofilms: Pathogens, Matrix, and Polymicrobial Interactions in Microenvironments (2018). *Trends Microbiol* 26: 229-242.

27. Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson GK, Allison C. Role of Fusobacterium nucleatum and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration (1998). *Infect Immun* 66: 4729-4732.

28. Brambilla E, Cagetti MG, Gagliani M, Fadini L, Garcia-Godoy F, Strohmenger L. Influence of different adhesive restorative materials on mutans streptococci colonization (2005). *Am J Dent* 18: 173-176.

29. Brambilla E, Gagliani M, Ionescu A, Fadini L, Garcia-Godoy F. The influence of light-curing time on the bacterial colonization of resin composite surfaces (2009). *Dent Mater* 25: 1067-1072.

30. Busscher HJ, Rinastiti M, Siswomihardjo W, van der Mei HC. Biofilm formation on dental restorative and implant materials (2010). *J Dent Res* 89: 657-665.

31. Campoccia D, Montanaro L, Arciola CR. A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces (2013). *Biomaterials* 34: 8533-8554.

32. Carlen A, Nikdel K, Wennerberg A, Holmberg K, Olsson J. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin (2001). *Biomaterials* 22: 481-487.

33. Carpentier B, Cerf O. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry (1993). *J Appl Bacteriol* 75: 499-511.

34. Cazzaniga G, Ottobelli M, Ionescu A, Garcia-Godoy F, Brambilla E. Surface properties of resin-based composite materials and biofilm formation: A review of the current literature (2015). *Am J Dent* 28: 311-320.

35. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, Geisinger ML, Genco RJ, Glogauer M, Goldstein M, Griffin TJ, Holmstrup P, Johnson GK, Kapila Y, Lang NP, Meyle J, Murakami S, Plemons J, Romito GA, Shapira L, Tatakis DN, Teughels W, Trombelli L, Walter C, Wimmer G, Xenoudi P, Yoshie H. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium:

Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions (2018). *J Periodontol* 89 Suppl 1: S74-S84.

36. Cholmakow-Bodechtel C, Füßl-Grünig E, Geyer S, Hertrampf K, Hoffmann T, Holtfreter B, Jordan RA, Kocher T, Micheelis W, Nitschke I, Noffz S, Scharf L, Schiffner U, Schützhold S, Stark H, Zimmer S. Fünfte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS V) (2016). Zahnärzte IdD.

37. Chung KK, Schumacher JF, Sampson EM, Burne RA, Antonelli PJ, Brennan AB. Impact of engineered surface microtopography on biofilm formation of Staphylococcus aureus (2007). *Biointerphases* 2: 89-94.

38. Darrene LN, Cecile B. Experimental Models of Oral Biofilms Developed on Inert Substrates: A Review of the Literature (2016). *Biomed Res Int* 2016: 7461047.

39. de Oliveira AL, Domingos PA, Palma-Dibb RG, Garcia PP. Chemical and morphological features of nanofilled composite resin: influence of finishing and polishing procedures and fluoride solutions (2012). *Microsc Res Tech* 75: 212-219.

40. Dige I, Raarup MK, Nyengaard JR, Kilian M, Nyvad B. Actinomyces naeslundii in initial dental biofilm formation (2009). *Microbiology* 155: 2116-2126.

41. Donlan RM. Biofilms and device-associated infections (2001). *Emerg Infect Dis* 7: 277-281.

42. Dunne WM, Jr. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? (2002). *Clin Microbiol Rev* 15: 155-166.

43. Eichner K, Kappert HF. Zahnärzliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung: Band 1 Grundlagen und Verarbeitung. 8th, 2005: Georg Thieme, Stuttgart.

44. Eick S, Glockmann E, Brandl B, Pfister W. Adherence of Streptococcus mutans to various restorative materials in a continuous flow system (2004). *J Oral Rehabil* 31: 278-285.

45. Elias S, Banin E. Multi-species biofilms: living with friendly neighbors (2012). *FEMS Microbiol Rev* 36: 990-1004.

46. Eltahlah D, Lynch CD, Chadwick BL, Blum IR, Wilson NHF. An update on the reasons for placement and replacement of direct restorations (2018). *J Dent* 72: 1-7.

47. Faltermeier A, Burgers R, Rosentritt M. Bacterial adhesion of Streptococcus mutans to orthodontic adhesives with various filler-volume fractions (2007). *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 132: 728 e727-728 e711.

48. Featherstone JD. The continuum of dental caries--evidence for a dynamic disease process (2004). *J Dent Res* 83 Spec No C: C39-42.

49. Ferracane JL. Resin composite--state of the art (2011). *Dent Mater* 27: 29-38.

50. Ferracane JL. Models of Caries Formation around Dental Composite Restorations (2017). *J Dent Res* 96: 364-371.

51. Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life (2016). *Nat Rev Microbiol* 14: 563-575.

52. Friedl KH, Schmalz G, Hiller KA, Shams M. Resin-modified glass ionomer cements: fluoride release and influence on Streptococcus mutans growth (1997). *Eur J Oral Sci* 105: 81-85.

53. Garrett TR, Bhakoo M, Zhang Z. Characterisation of bacterial adhesion and removal in a flow chamber by micromanipulation measurements (2008). *Biotechnol Lett* 30: 427-433.

54. Geissler A, Chen L, Zhang K, Bonaccurso E, Biesalski M. Superhydrophobic surfaces fabricated from nano- and microstructured cellulose stearoyl esters (2013). *Chem Commun (Camb)* 49: 4962-4964.

55. Geurtsen W. Substances released from dental resin composites and glass ionomer cements (1998). *Eur J Oral Sci* 106: 687-695.

56. Gibbons RJ. Bacterial adhesion to oral tissues: a model for infectious diseases (1989). *J Dent Res* 68: 750-760.

57. Gibbons RJ, Hay DI, Childs WC, 3rd, Davis G. Role of cryptic receptors (cryptitopes) in bacterial adhesion to oral surfaces (1990). *Arch Oral Biol* 35 Suppl: 107S-114S.

58. Gibbons RJ, van Houte J. On the formation of dental plaques (1973). *J Periodontol* 44: 347-360.

59. Griffen AL, Beall CJ, Campbell JH, Firestone ND, Kumar PS, Yang ZK, Podar M, Leys EJ. Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing (2012). *ISME J* 6: 1176-1185.

60. Hannig C, Hannig M. The oral cavity--a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man (2009). *Clin Oral Investig* 13: 123-139.

61. Hansel C, Leyhausen G, Mai UE, Geurtsen W. Effects of various resin composite (co)monomers and extracts on two caries-associated micro-organisms in vitro (1998). *J Dent Res* 77: 60-67.

62. Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. 5th, 2010: Deutscher Zahnärzte Verlag Köln, Köln.

63. Hollanders ACC, Kuper NK, Maske TT, Huysmans M. Secondary Caries in situ Models: A Systematic Review (2018). *Caries Res* 52: 454-462.

64. Holtfreter B, Kocher T, Hoffmann T, Desvarieux M, Micheelis W. Prevalence of periodontal disease and treatment demands based on a German dental survey (DMS IV) (2010). *J Clin Periodontol* 37: 211-219.

65. Hope CK, Wilson M. Measuring the thickness of an outer layer of viable bacteria in an oral biofilm by viability mapping (2003). *J Microbiol Methods* 54: 403-410.

66. Hughes CV, Kolenbrander PE, Andersen RN, Moore LV. Coaggregation properties of human oral Veillonella spp.: relationship to colonization site and oral ecology (1988). *Appl Environ Microbiol* 54: 1957-1963.

67. Ilie N, Hickel R. Resin composite restorative materials (2011). *Aust Dent J* 56 Suppl 1: 59-66.

68. Ionescu A, Brambilla E, Wastl DS, Giessibl FJ, Cazzaniga G, Schneider-Feyrer S, Hahnel S. Influence of matrix and filler fraction on biofilm formation on the surface of experimental resin-based composites (2015). *J Mater Sci Mater Med* 26: 5372.

69. Ionescu A, Wutscher E, Brambilla E, Schneider-Feyrer S, Giessibl FJ, Hahnel S. Influence of surface properties of resin-based composites on in vitro Streptococcus mutans biofilm development (2012). *Eur J Oral Sci* 120: 458-465.

70. Jackson RJ, Lim DV, Dao ML. Identification and analysis of a collagenolytic activity in Streptococcus mutans (1997). *Curr Microbiol* 34: 49-54.

71. Jakubovics NS. Intermicrobial Interactions as a Driver for Community Composition and Stratification of Oral Biofilms (2015). *J Mol Biol* 427: 3662-3675.

72. Jensen JL, Lamkin MS, Oppenheim FG. Adsorption of human salivary proteins to hydroxyapatite: a comparison between whole saliva and glandular salivary secretions (1992). *J Dent Res* 71: 1569-1576.

73. Kassebaum NJ, Smith AGC, Bernabe E, Fleming TD, Reynolds AE, Vos T, Murray CJL, Marcenes W, Collaborators GBDOH. Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990-2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors (2017). *J Dent Res* 96: 380-387.

74. Katsikogianni MG, Missirlis YF. Interactions of bacteria with specific biomaterial surface chemistries under flow conditions (2010). *Acta Biomater* 6: 1107-1118.

75. Kawai K, Tsuchitani Y. Effects of resin composite components on glucosyltransferase of cariogenic bacterium (2000). *J Biomed Mater Res* 51: 123-127.

76. Khalichi P, Singh J, Cvitkovitch DG, Santerre JP. The influence of triethylene glycol derived from dental composite resins on the regulation of Streptococcus mutans gene expression (2009). *Biomaterials* 30: 452-459.

77. Kidd EA, Beighton D. Prediction of secondary caries around tooth-colored restorations: a clinical and microbiological study (1996). *J Dent Res* 75: 1942-1946.

78. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases (2017). *Nat Rev Dis Primers* 3: 17038.

79. Kolenbrander PE, London J. Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence (1993). *J Bacteriol* 175: 3247-3252.

80. König KG. Karies und Paradontopathien: Ätiologie und Prophylaxe. 1st, 1987: Georg Thieme Verlag, Stuttgard.

81. Krzysciak W, Jurczak A, Koscielniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of Streptococcus mutans and the ability to form biofilms (2014). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 33: 499-515.

82. Kuliasha CA, Finlay JA, Franco SC, Clare AS, Stafslien SJ, Brennan AB. Marine anti-biofouling efficacy of amphiphilic poly(coacrylate) grafted PDMSe: effect of graft molecular weight (2017). *Biofouling* 33: 252-267.

83. Kumar PS, Mason MR. Mouthguards: does the indigenous microbiome play a role in maintaining oral health? (2015). *Front Cell Infect Microbiol* 5: 35.

84. Lehmann KM, Hellwig E. Zahnärztliche Probedeutik. 10th, 2005: Urban & Fischer München.

85. Lichter JA, Thompson MT, Delgadillo M, Nishikawa T, Rubner MF, Van Vliet KJ. Substrata mechanical stiffness can regulate adhesion of viable bacteria (2008). *Biomacromolecules* 9: 1571-1578.

86. Lin NJ. Biofilm over teeth and restorations: What do we need to know? (2017). *Dent Mater* 33: 667-680.

87. Liu J, Merritt J, Qi F. Genetic transformation of Veillonella parvula (2011). *FEMS Microbiol Lett* 322: 138-144.

88. Magdy NM, Kola MZ, Alqahtani HH, Alqahtani MD, Alghmlas AS. Evaluation of Surface Roughness of Different Direct Resin-based Composites (2017). *J Int Soc Prev Community Dent* 7: 104-109.

89. Marczuk-Kolada G, Jakoniuk P, Mystkowska J, Luczaj-Cepowicz E, Waszkiel D, Dabrowski JR, Leszczynska K. Fluoride release and antibacterial activity of selected dental materials (2006). *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 60: 416-420.

90. Matsumoto-Nakano M. Role of Streptococcus mutans surface proteins for biofilm formation (2018). *Jpn Dent Sci Rev* 54: 22-29.

91. McDougald D, Rice SA, Barraud N, Steinberg PD, Kjelleberg S. Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal (2011). *Nat Rev Microbiol* 10: 39-50.

92. Meereis CTW, Munchow EA, de Oliveira da Rosa WL, da Silva AF, Piva E. Polymerization shrinkage stress of resin-based dental materials: A systematic review and meta-analyses of composition strategies (2018). *J Mech Behav Biomed Mater* 82: 268-281.

93. Mei L, Busscher HJ, van der Mei HC, Ren Y. Influence of surface roughness on streptococcal adhesion forces to composite resins (2011). *Dent Mater* 27: 770-778.

94. Meiers JC, Miller GA. Antibacterial activity of dentin bonding systems, resin-modified glass ionomers, and polyacid-modified composite resins (1996). *Oper Dent* 21: 257-264.

95. Montanaro L, Campoccia D, Rizzi S, Donati ME, Breschi L, Prati C, Arciola CR. Evaluation of bacterial adhesion of Streptococcus mutans on dental restorative materials (2004). *Biomaterials* 25: 4457-4463.

96. Moreau JL, Xu HH. Fluoride releasing restorative materials: Effects of pH on mechanical properties and ion release (2010). *Dent Mater* 26: e227-235.

97. Nyvad B, Kilian M. Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo (1987). *Scand J Dent Res* 95: 369-380.

98. Oilo G. Biodegradation of dental composites/glass-ionomer cements (1992). *Adv Dent Res* 6: 50-54.

99. Ono M, Nikaido T, Ikeda M, Imai S, Hanada N, Tagami J, Matin K. Surface properties of resin composite materials relative to biofilm formation (2007). *Dent Mater J* 26: 613-622.

100. Ozdemir-Ozenen D, Sungurtekin E, Issever H, Sandalli N. Surface roughness of fluoride-releasing restorative materials after topical fluoride application (2013). *Eur J Paediatr Dent* 14: 68-72.

101. Paddick JS, Brailsford SR, Rao S, Soares RF, Kidd EA, Beighton D, Homer KA. Effect of biofilm growth on expression of surface proteins of Actinomyces naeslundii genospecies 2 (2006). *Appl Environ Microbiol* 72: 3774-3779.

102. Page RC. Gingivitis (1986). *J Clin Periodontol* 13: 345-359.

103. Palmer J, Flint S, Brooks J. Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm (2007). *J Ind Microbiol Biotechnol* 34: 577-588.

104. Park OJ, Yi H, Jeon JH, Kang SS, Koo KT, Kum KY, Chun J, Yun CH, Han SH. Pyrosequencing Analysis of Subgingival Microbiota in Distinct Periodontal Conditions (2015). *J Dent Res* 94: 921-927.

105. Pereira CA, Eskelson E, Cavalli V, Liporoni PC, Jorge AO, do Rego MA. Streptococcus mutans biofilm adhesion on composite resin surfaces after different finishing and polishing techniques (2011). *Oper Dent* 36: 311-317.

106. Pinna R, Usai P, Filigheddu E, Garcia-Godoy F, Milia E. The role of adhesive materials and oral biofilm in the failure of adhesive resin restorations (2017). *Am J Dent* 30: 285-292.

107. Quirynen M. The clinical meaning of the surface roughness and the surface free energy of intra-oral hard substrata on the microbiology of the supra- and subgingival plaque: results of in vitro and in vivo experiments (1994). *J Dent* 22 Suppl 1: S13-16.

108. Quirynen M, Bollen CM. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature (1995). *J Clin Periodontol* 22: 1-14.

109. Quirynen M, Marechal M, Busscher HJ, Weerkamp AH, Darius PL, van Steenberghe D. The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque formation. An in vivo study in man (1990). *J Clin Periodontol* 17: 138-144.

110. Renner LD, Weibel DB. Physicochemical regulation of biofilm formation (2011). *MRS Bull* 36: 347-355.

111. Ricketts D, Lamont T, Innes NP, Kidd E, Clarkson JE. Operative caries management in adults and children (2013). *Cochrane Database Syst Rev* CD003808.

112. Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation (2000). *Microbes Infect* 2: 1599-1607.

113. Rzhepishevska O, Hakobyan S, Ruhal R, Gautrot J, Barbero D, Ramstedt M. The surface charge of anti-bacterial coatings alters motility and biofilm architecture (2013). *Biomater Sci.* 1: 589–602.

114. Saha N, Monge C, Dulong V, Picart C, Glinel K. Influence of polyelectrolyte film stiffness on bacterial growth (2013). *Biomacromolecules* 14: 520-528.

115. Saint S, Chenoweth CE. Biofilms and catheter-associated urinary tract infections (2003). *Infect Dis Clin North Am* 17: 411-432.

116. Santerre JP, Shajii L, Leung BW. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived products (2001). *Crit Rev Oral Biol Med* 12: 136-151.

117. Scardino AJ, de Nys R. Mini review: Biomimetic models and bioinspired surfaces for fouling control (2011). *Biofouling* 27: 73-86.

118. Schroeder HE. Pathobiologie oraler Strukturen: Zähne, Pulpa, Parodont. 2nd, 1991: Kager,

119. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries (2007). *Lancet* 369: 51-59.

120. Siegismund D, Undisz A, Germerodt S, Schuster S, Rettenmayr M. Quantification of the interaction between biomaterial surfaces and bacteria by 3-D modeling (2014). *Acta Biomater* 10: 267-275.

121. Singh J, Khalichi P, Cvitkovitch DG, Santerre JP. Composite resin degradation products from BisGMA monomer modulate the expression of genes associated with biofilm formation and other virulence factors in Streptococcus mutans (2009). *J Biomed Mater Res A* 88: 551-560.

122. Siqueira WL, Custodio W, McDonald EE. New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle (2012). *J Dent Res* 91: 1110-1118.

123. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets (2002). *Periodontol 2000* 28: 12-55.

124. Song F, Koo H, Ren D. Effects of Material Properties on Bacterial Adhesion and Biofilm Formation (2015). *J Dent Res* 94: 1027-1034.

125. Song F, Ren D. Stiffness of cross-linked poly(dimethylsiloxane) affects bacterial adhesion and antibiotic susceptibility of attached cells (2014). *Langmuir* 30: 10354-10362.

126. Soni KA, Balasubramanian AK, Beskok A, Pillai SD. Zeta potential of selected bacteria in drinking water when dead, starved, or exposed to minimal and rich culture media (2008). *Curr Microbiol* 56: 93-97.

127. Steinberg D, Eyal S. Early formation of Streptococcus sobrinus biofilm on various dental restorative materials (2002). *J Dent* 30: 47-51.

128. Takahashi N, Yamada T. Catabolic pathway for aerobic degradation of lactate by Actinomyces naeslundii (1996). *Oral Microbiol Immunol* 11: 193-198.

129. Tanner J, Vallittu PK, Soderling E. Adherence of Streptococcus mutans to an E-glass fiber-reinforced composite and conventional restorative materials used in prosthetic dentistry (2000). *J Biomed Mater Res* 49: 250-256.

130. Tatakis DN, Kumar PS. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases (2005). *Dent Clin North Am* 49: 491-516, v.

131. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development (2006). *Clin Oral Implants Res* 17 Suppl 2: 68-81.

132. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations (2018). *J Clin Periodontol* 45 Suppl 20: S44-S67.

133. Tsumori H, Kuramitsu H. The role of the Streptococcus mutans glucosyltransferases in the sucrose-dependent attachment to smooth surfaces: essential role of the GtfC enzyme (1997). *Oral Microbiol Immunol* 12: 274-280.

134. Vacca Smith AM, Bowen WH. In situ studies of pellicle formation on hydroxyapatite discs (2000). *Arch Oral Biol* 45: 277-291.

135. van Dijken JW, Sjöström S. Gingival Reactions around and plaque formation on resin composites and glass-ionomer cements (1995). *Advances in Dental Research* 9:

136. van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology (1994). *J Dent Res* 73: 672-681.

137. van Oss CJ, Chaudhury MK, Good RJ. Monopolar surfaces (1987). *Adv Colloid Interface Sci* 28: 35-64.

138. Webb HK, Truong VK, Hasan J, Fluke C, Crawford RJ, Ivanova EP. Roughness parameters for standard description of surface nanoarchitecture (2012). *Scanning* 34: 257-263.

139. Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE. Mechanisms of adhesion by oral bacteria (1996). *Annu Rev Microbiol* 50: 513-552.

140. Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials--fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation (2007). *Dent Mater* 23: 343-362.

141. Wolf HF, Rateitschak KH, Rateitschak-Plüss EM. Parodontologie: Farbatlanten der Zahnmedizin 2012: Thieme, Stuttgart.

142. Yap AU, Yap SH, Teo CK, Ng JJ. Finishing/polishing of composite and compomer restoratives: effectiveness of one-step systems (2004). *Oper Dent* 29: 275-279.

143. Zahradnik RT, Propas D, Moreno EC. In vitro enamel demineralization by Streptococcus mutans in the presence of salivary pellicles (1977). *J Dent Res* 56: 1107-1110.

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Klinisches Beispiel von Kompositfüllungen 9

Abbildung 2: Klinisches Bild einer plaqueinduzierten Gingivitis 11

Abbildung 3: Klinisches Bild einer Parodontitis 11

Abbildung 4: Interaktion zwischen Bakterium und Substrat im Sinne des thermodynamischen Ansatzes (Bos et al., 1999). 15

Abbildung 5: Interaktion zwischen Oberfläche und Bakterium im Sinne des DLVO Ansatzes (Quirynen & Bollen, 1995). 17

Abbildung 6: Theoretische Kalkulation der Adhäsionskraft eines Bakteriums zum Substrat (Quirynen & Bollen, 1995) 24

Abbildung 7: Schematische Darstellung der Probenkörper 39

Abbildung 8: Silikonpolierer 40

Abbildung 9: Dreifelderausstreich-Methode 44

Abbildung 10: Schematische Darstellung der Anzucht des Biofilms 46

Abbildung 11: Verdünnungsreihe 48

Abbildung 12: Adhärenz von S. mutans zu den getesteten Probenkörpern 51

Abbildung 13: Adhärenz von A. naeslundii zu den getesteten Probenkörpern 52

Abbildung 14: Adhärenz von V. parvula zu den getesteten Probenkörpern 53

9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendete Materialien 38

Tabelle 2: Maximalschichtstärken und Polymerisationsdauer jeweiliger Materialien 39

Tabelle 3: Zusammensetzung der untersuchten Materialien 41

Tabelle 4: Technische Daten der verwendeten Materialien 42

Tabelle 5: Verwendete Bakterien 43

Tabelle 6: Differenz der bakterienspezifischen Adhäsion zu den getesteten Probenkörpern 54

10 Abkürzungsverzeichnis

BDDMA	Butandioldimethacrylat
BHI	Brain Heart Infusion
Bis-EMA:	bisphenol A polyetheylene glycol dimethacrylate
Bis-GMA	Bisphenol A-glycidyl methacrylat
Bis-HPPP	2,2-Bis[4(2,3-hydroxypropoxy)phenyl]propane
c-di-GMP	bis-(3',5')-di- Guanosinmonophosphats
CFU	Colony Forming Unit
CHX	Chlorhexidin
DDDMA	Dekandioldimethacrylat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DUDMA	Diurethandimethacrylat
EBPADMA	ethoxyliertes Bisphenol-A-dimethakrylat
EGDMA	Ethylenglycol-dimethylacrylat
EPS	extrazelluläre polymere Substanzen
GIZ	Glasionomerzement
MAA	Methacrylsäure
METAC	poly(2-(methacryloyloxy)-ethyl trimethyl ammonium chlorid
PDMS	poly(dimethylsiloxane)
PEGDMA	poly(ethylene glycol) dimethacrylate
PEM	Polyelektrolyt-Mulitlayern
PIA	polysaccharide intrazelluläre Adhäsinde
RMGIC	resin modified glasionomercement
SFE	Surface Free Energy
SPM	poly (3-sulphopropyl methacrylate)
SR	Surface Roughness

TCB Harz	Carbonsäure-modifiziertes Dimethacrylat
TEG	Triethylenglycol
TEGDMA	Triethylenglycol-dimethacrylat
TMPTMA	Trimethylolpropan-Trimethacrylat
U/min	Umdrehungen pro Minute
UDMA	Urethandimethacrylat

11 Rezepte

Brain Heart Infusion Broth (BHI):

37 g Brain Heart Infusion auf 1000 ml H_2O

Zur Sterilisation bei 121 °C autoklaviert

12 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich recht herzlich bei all jenen bedanken, die mich bei der Erstellung und auf dem Weg dieser Arbeit unterstützt haben.

Besonderer Dank gebührt Frau Prof. Dr. Karin Christine Huth, Oberärztin der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwig-Maximilians-Universität München, für die Überlassung des spannenden Themas, die Bereitstellung aller notwendigen Mittel zur Durchführung der Versuche und die Korrektur der Arbeit.

Darüber hinaus danke ich Herrn Prof. Dr. Reinhard Hickel, Direktor der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie und Dekan der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, dass ich diese Studie an seiner Einrichtung durchführen durfte.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. Maximilian Kollmuß, welcher mich stets tatkräftig unterstützte. Seine fachlich und menschlich ausgezeichnete Betreuung erleichterte mir die laboratorischen Tätigkeiten, das Verfassen dieser wissenschaftlichen Arbeit und vor allem ermöglichte er mir, meine Leidenschaft zur Materie zu erlangen und zu vertiefen. Vielen Dank für den großen persönlichen Einsatz, die zahlreichen Korrekturen sowie kritischen und qualifizierten Ratschläge.

Zu guter Letzt ist es mir ein Anliegen, meiner Familie und meinen Freunden zu danken, welche mir immer beistanden und mich unterstützten.

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Geburtsdatum/-ort	27.09.1992 in Graz (Österreich)
Staatsangehörigkeit	Österreich
E-Mail	k.feldner@live.de

Promotion

Seit Oktober 2017	Experimentelle Promotion an der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der Ludwigs-Maximilians-Universität München mit dem Thema: „Untersuchung der Plaqueretention auf verschiedenen dentalen Kompositmaterialien: eine mikrobiologische *in vitro* Studie“

Studium

September 2017	Approbation als Zahnärztin
2011-2017	Ludwig-Maximilians-Universität (LMU), München
	Studium der Zahnmedizin
	Abschluss: Staatsexamen

Berufserfahrung

April 2019 – jetzt	Vorbereitungsassistentin in der Zahnarztpraxis Marc Metzner in Poing

Februar – März 2016	Praktikum im Dental Department of Dhulikhel Hospital Kathmandu University Hospital (Nepal)
2008	Praktikum in der kieferorthopädischen Ordination Dr. Falkensammer / Dr. Feldner

Ausbildung

2006-2010	Bischöfliches Oberstufenrealgymnasium St. Hemma in Gurk (Österreich) Matura
2002-2006	Peraugymnasium BG/BRG in Villach (Österreich)
1998-2002	Montessori-Volksschule St. Andrä in Villach (Österreich)

Eidesstattliche Versicherung

Feldner, Katharina Susanna Elisabeth

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Untersuchung der Plaqueretention auf verschiedenen dentalen Kompositmaterialien: eine mikrobiologische *in vitro* Studie

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 13.03.2021

Katharina Feldner