

Aus der Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
(Direktor: Prof. Dr. Matthias Hannig)

**In-situ-Untersuchung der anti-adhäsiven Effekte von
Nanokompositbeschichtungen mit Fluorsilanzusatz**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2010

vorgelegt von: Jörn Philip Keßler
geb. am: 05.03.1981 in Saarbrücken

Widmung

Ich widme diese Arbeit meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1.	Zusammenfassung	1
2.	Einleitung.....	3
2.1	Die Pellikel	3
2.2	Die Entstehung der Pellikel	3
2.3	Eigenschaften und Funktionen der Pellikel	5
2.3.1	Bakterielle Adhärenz	6
2.3.2	Der mikrobielle Biofilm	8
2.3.3	Anti-adhäsive Zahnbeschichtungen zum Biofilm-Management	11
2.4	Fragestellung	13
3.	Material und Methoden.....	14
3.1	Probanden	14
3.1.1	Votum der Ethikkommission	14
3.2	Materialien.....	15
3.2.1	Prüfkörpertrageschienen.....	15
3.2.2	Prüfkörper	15
3.2.3	Beschichtungszusammensetzung	16
3.2.4	Referenzproben.....	16
3.2.5	Montage der Prüfkörper an den Tragevorrichtungen	17
3.3	Intraorale Exposition/ In-situ-Biofilmbildung.....	17
3.3.1	Versuchsbedingungen zur Erzeugung des In-situ-Biofilms	17
3.3.2	Systematik der Versuchsreihen	18
3.4	Rasterelektronenmikroskopische Analyse.....	18
4.	Ergebnisse.....	19
4.1	Versuchsreihe 1: Untersuchung der Biofilmbildung auf Referenzproben	19
4.1.1	Unbeschichtete Referenzproben aus Zahnschmelz.....	19
4.1.2	Referenzproben aus Vergleichsmaterialien (Keramik und Teflon)..	21
4.2	Versuchsreihe 2: Untersuchung der Biofilmbildung auf beschichteten Schmelzproben	24
4.2.1	Beschichtete Schmelzproben (ohne Fluorsilanzusatz)	25
4.2.2	Beschichtete Schmelzproben (mit einfachem Fluorsilanzusatz)	27
4.2.3	Beschichtete Schmelzproben (mit zweifachem Fluorsilanzusatz) ..	30
4.2.4	Beschichtete Schmelzproben (mit vierfachem Fluorsilanzusatz) ...	33
4.3	Versuchsreihe 3: Untersuchung der Biofilmbildung mit anschließendem Absprühen	36
4.3.1	Vergleichsproben (Keramik, Zahnschmelz, Teflon)	37
4.3.2	Beschichtete Schmelzproben nach Absprühen mit der Multifunktionsspritze der zahnärztlichen Behandlungseinheit	39
4.4	Versuchsreihe 4: Biofilmbildung auf beschichteten Schmelzproben nach Zahnbürstenabrasion	43

5.	Diskussion	51
5.1	Diskussion von Material und Methoden	51
5.1.1	Herstellung der Prüfkörper	51
5.1.2	Beschichtungen der Prüfkörper	52
5.1.3	Prüfkörpertrageschienen.....	53
5.1.4	Versuchsbedingungen	53
5.1.5	Rasterelektronenmikroskopische Analyse der Biofilmbildung	54
5.2	Diskussion der Ergebnisse	55
5.2.1	Beeinflussung der Biofilmbildung	55
5.2.2	Wertung anti-adhäsiver Eigenschaften des Materials	56
5.3	Einfluss des Fluorsilangehaltes der Beschichtung auf die bakterielle Adhärenz	58
5.4	Schlussfolgerungen	60
6.	Literaturverzeichnis	62
7.	Danksagung	81

1. Zusammenfassung

Alle in der Mundhöhle befindlichen natürlichen und künstlichen Oberflächen werden innerhalb kürzester Zeit von der Pellikel, einer Biopolymer-schicht aus adsorbierten Speichelproteinen, überzogen. Die Pellikel ist die Basis der bakteriellen Besiedelung sowohl der Zahnhartsubstanz als auch zahnärztlicher Werkstoffe. Da der bakterielle Biofilm, die Plaque, Ausgangspunkt von Karies und der meisten anderen oralen Infektionskrankheiten ist, wäre es ein bedeutender Fortschritt in der Prävention oraler Erkrankungen, eine Oberfläche zu schaffen, auf der es nicht mehr zur Ausbildung eines Biofilmes kommen kann.

Ziel dieser Studie war es, *in vivo* die anti-adhäsiven Eigenschaften verschiedener Beschichtungsmaterialien auf Nanokompositbasis (Institut für Neue Materialien, Saarbrücken) untereinander sowie mit Referenzproben aus unterschiedlichen zahnmedizinischen Werkstoffen und unbeschichteten Schmelzproben zu vergleichen. Dieser Vergleich der auf den unterschiedlichen Oberflächen entstandenen Biofilme sollte Aufschluss darüber geben, ob die untersuchten Beschichtungsmaterialien anti-adhäsive Eigenschaften aufweisen.

Im Rahmen der *In-vivo*-Versuche wurden von vier Probanden über 24, 48 Stunden und 7 Tage Prüfkörper getragen, die an individuell angefertigten Tiefziehschienen im Bereich der Bukkalfläche des 1. Molaren im Oberkiefer befestigt waren.

Die rasterelektronenmikroskopische Analyse zeigte, dass die bakterielle Biofilmbildung auf der Beschichtung im Vergleich zu den Referenzprüfkörpern in ihrem Ausmaß deutlich reduziert war und dass es auf etlichen Prüfkörpern zum Ablösen von Teilen des Biofilms von der Beschichtungs Oberfläche kam. Aus diesem Befund kann der Rückschluss gezogen werden, dass die Beschichtung der Zahnschmelzoberfläche in gewissem Umfang anti-adhäsive Oberflächeneigenschaften verleiht. Dieser Effekt war allerdings bei Prüfkörpern, die über 7 Tage *intraoral* exponiert worden waren, nicht mehr nachweisbar.

Das Absprühen der Prüfkörper nach der In-vivo-Tragephase mit einem Wasserspraystrahl zeigte, dass ein Entfernen adhärenter Bakterienfilme möglich ist, die auf der Beschichtung etablierte Pellicelschicht aber auf der Oberfläche (partiell) erhalten bleibt.

Zwischen Proben ohne Abrasion und Proben nach verschiedenen Abrasionszyklen war keine Veränderung in der Hemmung der Biofilmbildung feststellbar. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die Beschichtungsfläche „easy-to-clean“-Eigenschaften besitzt und abrasionsfest ist.

Abstract

Any natural or artificial solid surfaces exposed to the oral cavity will be covered within seconds by the acquired salivary pellicle, a result of the biopolymer adsorption at the tooth-saliva interface. The pellicle layer is the basis of the bacterial colonization of both, the tooth surface as well as dental materials. As the bacterial biofilm, plaque, is the starting point of caries and most other oral diseases, it would make a significant advance in the prevention of oral diseases, to develop a surface on which biofilm formation is inhibited. The purpose of this study was to compare the in vivo anti-adhesive properties of various nanocomposite coating materials (Institut für Neue Materialien, Saarbrücken) with each other and with reference samples from different materials and uncoated dental enamel samples. This comparison should proof, whether the studied coating materials exhibit antiadhesive properties. Coated and uncoated specimens were carried by four subjects over 24, 48 hours, 7 days, using custom-made splints. The specimens were mounted at the buccal surface of the upper first molars. The scanning electron microscopic analysis showed that the bacterial biofilm formation was significantly reduced on the nanocomposite coating compared to the reference specimens. The conclusion can be drawn that the coating provides anti-adhesive surface properties to the enamel surface. However, this effect was no longer detectable in specimens that were exposed intra-orally for 7 days. Further experiments showed that water spraying of the specimens removed the biofilm, while a thin pellicle layer partial remained in past. Between samples with

and without toothbrush abrasion no change in biofilm formation was determined. It was concluded that the coating materials possessed „self-cleaning“-properties and resisted against abrasion.

2. Einleitung

2.1 Die Pellikel

Die Pellikel ist eine bakterienfreie organische Biopolymerschicht, die sich im Mundhöhlenmilieu aus dem Speichel auf der Zahnhartsubstanz und anderen Feststoffen bildet (Norde 1984, Nyvad und Fejerskov 1987). Die Pellikel entsteht nicht nur auf der Zahnoberfläche, sondern kann sich auch auf dentalen Werkstoffen wie Zahnersatz und Füllungswerkstoffen ausbilden. Sie etabliert sich an der Phasengrenze zwischen Mundhöhle und Festkörperoberfläche (Hannig 1997, 1999).

2.2 Die Entstehung der Pellikel

Die Pellikelbildung ist ein selektiver Adsorptionsprozess (Yao et al. 2003), bei dem insgesamt nur eine geringe Anzahl von Proteinen aus dem Speichel an der Zahnoberfläche nachzuweisen ist. Diese stammen aus den Speicheldrüsen, der Sulkusflüssigkeit und sogar aus Bakterien (Kousvelari et al. 1980, Embery et. al 1986, Bennick et al. 1987, Rykke et al. 1990, Vacca Smith und Bowen 2000). Der Proteinbestandteil der Pellikel setzt sich zum größten Teil aus Enzymen, Glykoproteinen und Immunglobulinen zusammen (Fine et. al. 1984, Gibbons und Hay 1989, Hulbert und Gibbons 1990, Rykke et al. 1990). Darüber hinaus konnten auch Lipide in der Pellikel nachgewiesen werden (Slomiany et al. 1986, 1990).

Beginnend mit der selektiven Adsorption von Speichelbestandteilen (Glykoproteine, Amylase, Lactoferrin, Lysozym, sekretorisches IgA, IgG und IgM und Albumin), Sulkusflüssigkeit und ausgeschiedenen bakteriellen Produk-

ten wie Glykosyltransferasen und Glukane, formiert sich an der Grenzfläche zwischen Zähnen und Mundhöhle eine mehr oder weniger dichte Biopolymerschicht aus Proteinaggregationen (Klimm 1997, Lendenmann et al. 2000, Marsh und Martin 2003).

Die Dicke natürlicher Pellikel variiert zwischen wenigen Nanometern bis hin zu mehreren Mikrometern. Durch die individuelle Speichelzusammensetzung und schwankende Sekretionsmengen wird die Pellikelmorphologie und -funktion maßgeblich beeinflusst. (Hannig und Joiner 2006).

Die verantwortlichen Kräfte für die Pellikelbildung sind neben den elektrostatischen Anziehungskräften (Juriaanse und Booji 1981, Moreno et al. 1979, 1982, Kousvelari et al. 1988), hydrophobe Wechselwirkungen (Glantz und Larsson 1981, Gorbunoff und Timasheff 1984, Norde 1984), Wasserstoffbrückenbildungen und van-der-Waals-Kräfte (Vassilakos et al. 1982, 1992, 1993).

Bei der Biopolymeradsorption lassen sich zwei Phasen unterscheiden (Skjörland et al. 1995). In Kontakt mit der Mundflüssigkeit lösen sich die in der Zahnhartsubstanz befindlichen Calciumionen schneller aus ihrem Verband als die Phosphationen. In der ersten Phase der Pellikelbildung interagieren Pellikelpräkursoren, spezielle im Speichel vorhandene Proteine, (Hannig und Joiner 2006, Lendenmann et al. 2000, Vitkov et al. 2004, Yao et al. 2000), mit den Phosphationen (Bennick et al. 1979, Hay 1973, Moreno et al. 1979 und 1982). Außerdem tragen Calcium-Brücken (Embery et al. 1986, Hay 1967, 1973) zur Adsorption der Speichelproteine an der Zahnoberfläche bei. Dadurch bildet sich auf einer gereinigten Schmelzoberfläche innerhalb eines Zeitraumes von 30 Sekunden bis 3 Minuten eine, noch sehr dünne, initiale Pellikel aus, die als „acquired salivary pellicle“ (aufgelagertes Schmelzhäutchen) beschrieben wird (Hannig und Bößmann 1989, Einfeldt 1978, Klimm 1997, Hannig und Joiner 2006).

In der zweiten Phase der Pellikelbildung lagern sich weitere Makromoleküle aus dem Speichel an die initiale Pellikel an und die bereits absorbierten Proteine gehen weitere Bindungen mit Proteinaggregationen, die frei im Speichel vorliegen, ein (Hannig und Joiner 2006).

Die gleichen Gesetzmäßigkeiten gelten für die Adsorption von Speichelproteinen an künstlichen Festkörperoberflächen wie Füllungswerkstoffen, Imp-

lantatoberflächen oder prothetischem Zahnersatz (Hannig 1997, 1999a, Hannig und Hannig 2009). Die initiale Adsorption von Speichelpolymeren beginnt auch an künstlichen Festkörperoberflächen im Mundmilieu bereits nach wenigen Sekunden. (Glantz 1980, Ericson et al. 1982, Horbett 1982).

2.3 Eigenschaften und Funktionen der Pellikel

Die Pellikel zeigt bei der Betrachtung mit dem Transmissionselektronenmikroskop eine große ultrastrukturelle Vielfalt, welche abhängig ist vom Pellikelalter, von der Pellikelbildungszeit und dem Ort der Pellikelbildung in der Mundhöhle (Sönju et al. 1974, Hannig 1997).

Mit zunehmender Bildungszeit dominieren globulär strukturierte Anteile in der Biopolymerschicht und die gesamte Pellikel verstärkt sich so nicht nur in ihrer Schichtstärke, sondern auch maßgeblich in ihrer Dichte. Der zweite, die Morphologie der Pellikel beeinflussende Faktor ist die Lokalisation in der Mundhöhle. An geschützten Zahnoberflächen wie zum Beispiel den Approximalräumen bildet sich die Pellikel stärker und dichter aus (Frank, Brendel 1966, Tinanoff 1976 b,c) als an offenliegenden Zahnflächen wie z.B. den okklusalen, vestibulären oder palatinalen/lingualen Bereichen (Leach, Saxton 1966, Lenz 1967, Tinanoff 1976), die einer ständigen Reinigung durch Wange, Zunge oder antagonistischen Zähne unterliegen und so die Schichtdicke der Pellikel ständig reduzieren.

Der Pellikelfilm ist in der Lage eine Lubrikationsschicht an der Zahnoberfläche zu erzeugen (Kuboki et al. 1987). Die auf der Zahnoberfläche haftende Schmierschicht verringert die Reibung zwischen den antagonistischen Zähnen und verringert so die Abnutzung der Zahnhartsubstanz (Aguirre et al. 1987, Hannig und Joiner 2006). Diese Schutzfunktion der Pellikel bewirkt auch eine signifikante Verringerung der Abrasion der Zahnhartsubstanz durch Zähneputzen mit Zahnpasta (Joiner et al. 2008).

Die Pellikel schützt jedoch nicht nur vor Abrasion und Attrition durch eine Reduktion der Reibung bei Artikulationsbewegungen unter Zahnkontakt (Mayhall 1980, Nikiforuk 1985). Eine bedeutende Schutzfunktion erfüllt sie auch bei erosiven Prozessen.

Die Pellikel verzögert den zeitlichen Ablauf der erosiven Destruktion der Schmelzoberfläche nach Einwirkung von Säuren zeitlich (Hannig und Balz 1999). Die selektive Permeabilität der Pellikel zeigt sich in einem reduzierten Ionenfluss für Calcium und Phosphat (Zahradnik et al. 1976, 1977, 1978, Rytömaa et al. 1988, Meuermann und Frank 1991).

Die Pellikel trägt so zur Regulation des Calcium- und Phosphationenaustauschs zwischen Zahnoberfläche und Speichel bei (Leinonen et al. 1999, Lenander-Lumikari und Loimaranta 2000).

Der Pellikelfilm verringert weiterhin durch seine Pufferkapazität die demineralisierende Wirkung intraoral auftretender saurer Noxen an der Zahnoberfläche (Schüle 1961, 1962, 1963, Zahradnik 1976).

Die Pellikel erfüllt jedoch nicht nur eine physiologische Schutzfunktion, sondern auch eine pathophysiologische Funktion (Hannig M. und Hannig C. 2007, 2009), denn erst durch die Pellikel wird es den Bakterien ermöglicht, auf der Zahnoberfläche zu haften und den bakteriellen Biofilm (Plaque) zu bilden. (De Jong et al. 1982, van Pelt et al. 1983).

2.3.1 Bakterielle Adhärenz

Die bestimmenden Faktoren für die Pathogenität des bakteriellen Biofilms sind die irreversible Adhäsion der Bakterien an die Pellikel (Gibbons und van Houte 1980, Theilade 1989) und die nachfolgende bakterielle Proliferation (Marsh und Bradshaw 1995).

Voraussetzung für die Anlagerung der Bakterien an die Zahnoberfläche ist die Ausbildung einer Pellikel (De Jong 1982, van Pelt 1983). Die Streptokokken (*S. sanguis*, *S. mitis*, *S. mutans*), die ersten Besiedler des Biofilms (Theilade et al. 1982, Liljemark et al. 1986, Nyvad und Kilian 1987, Manson-Rahemtulla, Rahemtulla, Baldone, Pruitt, Hjerpe, 1988), und grampositive Stäbchen wie die Aktinomyzeten (Rönström 1977, Socransky 1977, Theilade 1982, Liljemark 1986, Nyvad, Kilian 1987) benötigen für die Adhärenz spezielle Rezeptoren, die an der Pellikeloberfläche existent sind (van Houte 1980, Stinson 1982, , Ellen 1985, Gibbons, Embery 1986, Hay 1988, Gibbons 1989, Kishimoto 1989, 1990).

Van-der-Waals-Kräfte und hydrophobe Wechselwirkungen führen zur reversiblen Adhäsion von „vorbeischwimmenden“ Mikroorganismen an die Pellikel (Rutter und Abbott 1978). Diese reversible Adhäsion ist Voraussetzung für die sekundäre irreversible Phase der bakteriellen Adhäsion durch die rezeptorvermittelte Bindung an der Pellikeloberfläche (Rosenberg et al. 1983). Die Mikroorganismen haften jedoch nicht nur an der Pellikel, sondern auch untereinander durch bakterielle Co-Adhärenz (Brecx et al. 1981, Nyvad und Fejerskov 1987). Die bakteriellen Pionierkeime ermöglichen so die Adhäsion weiterer Bakterienspezies. Die Rauheit der Oberfläche beeinflusst maßgeblich die bakterielle Adhärenz. (Siegrist 1991, Quiryneen und Bollen 1995, Rimondini 1997, Teughels et. al 2006). Unregelmäßigkeiten und Mikrorauheiten schützen die Bakterien vor Flüssigkeitsbewegungen oder vor mechanischer Entfernung durch Zunge oder Wange und stellen daher einen prädisponierenden Faktor für die bakterielle Adhärenz dar (Hannig 1999).

Durch Zellteilung vervielfältigen sich die adhärenenten Bakterien in den ersten 4 Stunden sehr schnell und bilden Mikrokolonien aus. Mehrere Mikrokolonien bilden so durch weiteres Wachstum den gesamten Biofilm und lassen diesen von wenigen 100 Nanometern auf einige Mikrometer anwachsen (Marsh und Martin 2003). Dieser einige Mikrometer dicke Plauefilm ist durch seine raue Oberfläche bereits deutlich mit der Zunge auf den Zahnoberflächen zu tasten und nur noch mechanisch oder durch eine aggressive Säure, wie sie zum Beispiel im Rahmen der Schmelzätztechnik zur adhäsiven Befestigung von Dentalwerkstoffen an der Zahnoberfläche verwendet wird, zu entfernen (Mayhall 1980, Hannig und Bößmann 1987, 1988).

Die bakterielle Adhäsion auf zahnärztlichen Materialien erfolgt analog zur Besiedlung der Zahnoberfläche und ist an eine bereits etablierte Pellikel gebunden. Sie erfolgt, entgegen früherer Auffassungen, weitgehend materialunabhängig, da auch körperfremde Oberflächen wie Füllungsmaterialien oder Materialien prothetischer Versorgungen durch die omnipräsente Pellikel maskiert und so nicht mehr von der natürlichen Zahnoberfläche zu unterscheiden sind (Hannig M. und Hannig C. 2009). Die Pellikel, und nicht die Materialoberfläche, stellt die Basis für eine bakterielle Besiedlung dar. (Shahal 1998, Hannig 1999).

Ergebnisse klinisch-experimenteller Studien bezüglich der Plaqueakkumulation auf verschiedenen dentalen Materialien ergaben, dass die Belagsbildung unterschiedlich stark ausgeprägt ist. Eine deutliche niedrigere Plaquebildung bei gleicher Oberflächenrauheit findet man im Vergleich mit anderen Materialien (wie z.B. Amalgam, Komposit, Gold) bei Dentalkeramiken. (Krämer et al. 1989, Adamczyk und Spiechowicz 1990, Siegrist et al. 1991, Hahn et al. 1992, Kawai und Urano 2001, Ausschill et al. 2002).

Aufgrund seines hydrophoben Charakters neigt Polytetrafluorethylen (Teflon) zu geringer Benetzbarkeit, was in verschiedenen Studien hinsichtlich der bakteriellen Adhäsion untersucht wurde. Es wurde eine signifikant verminderte Plaqueanlagerung an in vivo exponierten Teflonoberflächen festgestellt (Quirynen et al. 1989, 1990, Maetani et al. 1991).

2.3.2 Der mikrobielle Biofilm

Der mikrobielle Biofilm ist die vorherrschende Lebensform von Bakterien. Dabei handelt es sich um bakterielle Populationen, die auf einer festen Oberfläche wie Zähnen, Zahnrestorationen, Prothesen- oder Implantatoberflächen adhäreren, proliferieren und von einer extrazellulären polymeren Matrix umgeben sind (Watnick und Kolter 2000, Flemming und Wingender 2001).

Der Biofilm ist die orale Variante des Phänomens der Bioadhäsion, die überall dort auftritt, wo sich Grenzflächen zwischen biologischem Milieu und Festkörperoberfläche befinden.

Das epithelialisierte intraorale Gewebe stellt die einzige orale Struktur dar, auf der keine nachhaltige bakterielle Aggregation möglich ist, da durch die kontinuierliche Desquamation die anhaftenden Bakterien mitsamt den abgestorbenen Epithelzellen abgestoßen werden und die Biofilmbildung kontinuierlich unterbrochen wird (Attin et al. 2005, Hannig M. und Hannig C. 2009). Der dentale Biofilm besteht aus mehr als 500 - 700 verschiedenen Species, von denen mehr als die Hälfte derzeit nicht kultivierbar sind (Netuschil et al. 1996; Caldwell et al. 1997, Wilson 2001, Aas et al. 2005).

Um ihr Überleben zu sichern, existieren die Bakterien in der Organisationsstruktur Biofilm, in der sie nicht als unabhängige Individuen leben, sondern in eine koordinierte Gemeinschaft eingebunden sind (Marsh und Bradshaw 1999). Diese Struktur gewährt den Bakterien etliche Vorteile, so werden durch die primäre Adhärenz der Pionierkeime erst die Lebensbedingungen für später folgende Bakterienarten geschaffen und durch eine geänderte Proteinsynthese wird das Wachstum aller Organismen im Biofilm positiv beeinflusst. Des Weiteren bietet der Biofilm einen sehr effizienten Schutz gegen Umgebungseinflüsse oder Desinfektionsmittel und Antibiotika.

Die Organismen in dieser Gemeinschaft können ihren kompletten Metabolismus gegenüber einzeln lebenden Artgenossen verändern. Es verändert sich ihre Genaktivität, was wiederum zu einem veränderten Stoffwechsel und einer veränderten Zellstruktur führt (Davies et al. 1993, Boles et al. 2004). Diese Veränderung ist stark beeinflusst durch die Lage des Bakteriums in einer der Schichten des Biofilms (Costerton et al. 1995).

Während die Mikroorganismen in den oberen Schichten stoffwechselaktiv sind, da sie über eine bessere Versorgung mit Sauerstoff und Nahrung verfügen, ist die Stoffwechselaktivität der in tieferen Schichten angesiedelten Bakterien aufgrund des geringeren Nahrungsangebots deutlich reduziert (Anwar et al. 1992, Wimpenny et al. 2000).

Sind ausreichend Mikroorganismen durch Koaggregation oder Zellvermehrung zusammengekommen und in einem Biofilm organisiert, so verhalten sie sich wie ein Organismus (Bowden und Hamilton 1998; de Kievit und Iglewski 2001). Die Mikroorganismen beginnen untereinander zu kommunizieren. Diese Zell-zu-Zell-Kommunikation wird „Quorum sensing“ genannt. Sie beschreibt Phänomene wie Plasmidtransfer, aber auch die lokale Synthese von Antibiotika und Enzymen.

Im Vergleich mit planktonisch lebenden Bakterien sind die gleichen Bakterien im Biofilm gegenüber einer antibiotischen Therapie weniger empfindlich. Die antimikrobiellen Wirkstoffe werden im bakteriellen Verbund des Biofilms durch eine Zusammenarbeit der Bakterienzellen leichter sequenziell abgebaut, und es werden auf der Oberfläche von Biofilmen Stoffe freigesetzt, welche bakterizide Substanzen wie Antibiotika, Detergentien und Angriffe der

Immunabwehr neutralisieren können (Costerton et al. 1999, Marquis 1995; Robinson et al. 2006).

Durch die Akkumulation und Proliferation der Bakterien an der Zahnoberfläche kommt es zur Ausbildung von Mikrokolonien. In dieser Phase beginnt auch die Produktion von extrazellulären polymeren Substanzen (EPS), die zur Bildung der interbakteriellen Biofilmmatrix beitragen.

Die EPS stellen die Basis für die Zusammensetzung, die Struktur und die Funktion sowie die spezifischen physikalischen Eigenschaften des Biofilms dar (Anwar et al. 1992; Flemming und Wingender 2001). Die EPS bilden eine hochhydratisierte heterogene Matrix, welche die dreidimensionale Anordnung der Bakterien fixiert. Sie bestehen überwiegend aus geladenen, meist anionischen oder neutralen Polysacchariden und Proteinen, zum Teil auch aus Anteilen von Nukleinsäuren, Lipiden und anderen Makromolekülen (Costerton et al. 1995). Der Biofilm wird von Kanälen und Poren durchzogen, um auch die Versorgung der Bakterien der unteren Schichten zu sichern (Costerton et al. 1995, Marsh et. al 2004).

In der Mundhöhle besteht ein dynamisches Gleichgewicht zwischen der ständigen Adhäsion von Mikroorganismen und verschiedenen Mechanismen der Entfernung wie Schlucken, Bewegungen der Zunge, Ablösen der Bakterien durch Nahrung und Mundhygiene sowie den Speichelfluss. Durch diese Scherkräfte werden einzelne Zellen oder ganze Biofilmareale abgelöst (Quirynen et al. 2002, Flemming und Wingender 2001).

Wegen dieser Kräfte können Biofilme nur eine begrenzte Stärke erreichen und es stellt sich das Gleichgewicht zwischen Biofilmwachstum und Ablösung ein.

Ist das ökologische Gleichgewicht im Biofilm gestört, so kann es zu einem Überwuchern kariespathogener Bakterien, zu denen vor allem Mutans-Streptokokken zählen, kommen. Dieses Phänomen wird durch den häufigen Konsum fermentierbarer Kohlenhydrate induziert. Saure Stoffwechselprodukte aus dem Kohlenhydratmetabolismus der kariogenen Bakterien führen zur Demineralisation der Zahnhartsubstanz.

Im Fokus der Kariesprophylaxe steht daher die regelmäßige Entfernung des bakteriellen Biofilms von der Zahnoberfläche. Die Effizienz dieser etablierten Prophylaxemaßnahme steht und fällt jedoch ganz wesentlich mit der indivi-

duellen Compliance des Patienten. Insbesondere bei Patienten mit hoher Kariesaktivität wären ergänzende prophylaktische Konzepte zur Biofilmkontrolle wünschenswert.

2.3.3 Anti-adhäsive Zahnbeschichtungen zum Biofilm-Management

Als Schlüsselereignis in der Pathogenese der Karies ist die bakterielle Anhaftung und Akkumulation (Biofilmbildung) an der Zahnoberfläche anzusehen. Wenn es gelingt, die Biofilmbildung an der Zahnoberfläche zu reduzieren, lässt sich auch das Ausmaß der Kariesentstehung verringern. Neben der täglichen Mundhygiene könnte auch die Modifikation der Zahnoberfläche durch das Auftragen einer anti-adhäsiv wirksamen Beschichtung eine interessante Möglichkeit zur Biofilmkontrolle (Biofilmreduktion) darstellen. Es konnte gezeigt werden, dass Oberflächenbeschichtungen mit verschiedenen Silanen oder Siloxanen dem Zahn tatsächlich anti-adhäsive Oberflächeneigenschaften verleihen können, aus denen auch unter Mundhöhlenbedingungen eine reduzierte bakterielle Kolonisation resultiert (Olsson et al. 1991, 1992, 1996, Ellingsen und Rölla 1994, Lassen et al. 1994, Rölla et al. 1996, Yoshina et al. 1997, Guan et al. 2003, Hannig et al. 2007).

Entsprechende Beschichtungen tragen durch die Verringerung der freien Oberflächenenergie an der Zahnoberfläche zur Reduktion der Biofilmbildung bei. Allerdings weisen derartige Beschichtungen mit einer Stärke von nur wenigen Moleküllagen keine ausreichende Mundhöhlenbeständigkeit auf und können deshalb nur zur temporären Modifikation der Zahnoberfläche und Beeinflussung der Biofilmbildung dienen.

Eine nachhaltige Modifikation (Reduktion) der bakteriellen Adhärenz und Biofilmbildung wäre denkbar durch die Applikation einer polymerisierbaren, (permanent) stabilen, transparenten und anti-adhäsiv wirksamen Beschichtung der Zahnoberfläche. Zu diesem Zweck wurde in Kooperation mit dem Institut für Neue Materialien (Saarbrücken) ein experimentelles, hitzopolymerisierbares Nanokomposit-Beschichtungsmaterial entwickelt, das eine niedrige Oberflächenenergie von 18-20 mJ/mm² aufweist (Hannig et al. 2007). Das experimentelle Beschichtungsmaterial besteht aus SiO₂ – Nano-

partikeln, die in eine Matrix aus Organo-Alkoxy-Silanen und Fluorsilanen eingebettet sind. Pilotversuche mit beschichteten Schmelzprüfkörpern, die über 24h von Probanden in der Mundhöhle getragen wurden, ergaben, dass die Biofilmbildung auf den beschichteten Proben im Vergleich zu den unbeschichteten Proben deutlich reduziert war (Hannig et al. 2007). Auf den beschichteten Proben war nach der 24-stündigen intraoralen Exposition oftmals nur eine (residuale) Pellikelschicht mit einigen wenigen adhären Bakterien festzustellen. Häufig befand sich der Biofilm im Status der Ablösung (des „Abschilfern“) von der Beschichtungsoberfläche (Hannig et al. 2007).

Diese Befunde lassen den Rückschluss zu, dass die Adhäsionskräfte des Biofilms an der Oberfläche der Beschichtung soweit reduziert sind, dass unter dem Einfluss der intraoral wirksamen Scherkräfte (Muskelbewegungen, Speichelfluss) ein Abscheren von der Beschichtungsoberfläche erfolgt. Anders formuliert: Die experimentelle Beschichtung verleiht der Zahnoberfläche „easy-to-clean“ Eigenschaften (Hannig et al. 2007).

Limitierend im Hinblick auf die Anwendung des experimentellen Beschichtungsmaterials in der Mundhöhle wirkt sich allerdings die Tatsache aus, dass die Aushärtung des Materials durch einen Hitzepolymerisationsprozess bei Temperaturen von über 100°C erfolgt.

Eine Applikation auf der Zahnoberfläche im Mund des Patienten wäre nur denkbar, wenn es gelänge, eine lichtpolymerisierbare Version des Beschichtungsmaterials zu entwickeln. Forschungsarbeiten im Rahmen eines vom BMBF geförderten Verbundprojektes (Verbundpartner: INM, Saarbrücken; Heraeus-Kulzer, Weinheim, Ivoclar-Vivadent, Liechtenstein; EPG, Saarbrücken; Klinik für Zahnerhaltung, Universität des Saarlandes) haben zur Entwicklung von lichtpolymerisierbaren Beschichtungswerkstoffen geführt, deren „easy-to-clean“ Eigenschaften im Hinblick auf die Reduktion/Modifikation der intraoralen Biofilmbildung in der vorliegenden Arbeit untersucht werden sollen.

2.4 Fragestellung

Im Rahmen der vorliegenden klinisch-experimentellen Arbeit sollte überprüft werden, inwieweit lichtpolymerisierbare experimentelle Beschichtungsmaterialien, die vom Institut für Neue Materialien (Saarbrücken) zur Verfügung gestellt wurden, unter Mundhöhlenbedingungen „easy-to-clean“-Eigenschaften aufweisen. Im Einzelnen wurde in dieser In-situ-Studie untersucht, in welchem Umfang die Beschichtungen der intraoralen Bildung eines Biofilms entgegenwirken können, über welchen Zeitraum die biofilmhemmende Wirkung anhält sowie in welcher Quantität sich Biofilme auf der beschichteten Oberfläche ausbilden können. Des Weiteren wurde untersucht, inwiefern sich eine Veränderung des Fluorsilangehaltes in der Beschichtung auf die Plaqueadhäsion auswirkt, da durch die Zugabe von Fluorsilan die Vorteile der deutlich verminderten Plaqueanlagerung an Teflonoberflächen auf die zu untersuchenden Beschichtungen übertragen werden sollten (Quirynen et al. 1989, 1990, Maetani et al. 1991).

Auch die Dauerbeständigkeit der Oberflächenbeschichtungen bezüglich der täglichen Mundhygiene wurde untersucht, um zu prüfen, inwieweit die „easy-to-clean“ Eigenschaften des Beschichtungsmaterials auch unter Einfluss der Zahnbürstenabration erhalten bleiben.

Zielsetzung der In-situ-Untersuchungen war es, ein Beschichtungsmaterial zu identifizieren, das eine Biofilmbildung über einen möglichst langen Zeitraum verhindern kann sowie möglichst wenig verschleißt. Die Beschichtung soll zumindest „easy-to-clean“-, im Idealfall anti-adhäsive Eigenschaften aufweisen, d.h., die bakterielle Adhärenz verhindern.

3. Material und Methoden

3.1 Probanden

Für die In-situ-Studie standen vier Probanden im Alter zwischen 24 und 30 Jahren zur Verfügung. Anamnestisch waren die Probanden als gesund einzustufen. Den Speichelfluss beeinflussende Erkrankungen lagen nicht vor. Während des Studienzeitraums nahm kein Proband Medikamente ein, ebenso war der Genuss von Alkohol oder Nikotin ausgeschlossen. Die Probanden waren vollbezahnt, wiesen keine unversorgten kariösen Defekte, insuffiziente Restaurationen oder Entzündungen des marginalen Parodonts auf. Keiner der Probanden zeigte eine erhöhte Neigung zu Zahnsteinbildung. Die Überprüfung der Plaque- und Sulkusblutungsindizes erbrachte Werte nahe „null“. Die Mundschleimhäute der Probanden wiesen ein unauffälliges Aussehen auf. Erkrankungen der Speicheldrüsen oder allgemeine Leiden, die mit verändertem Speichelfluss einhergehen, lagen nicht vor.

3.1.1 Votum der Ethikkommission

Vor Durchführung der angedachten In-situ-Experimente zur Biofilmbildung auf Nanokompositbeschichtungen wurde die Zustimmung der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes eingeholt.

Die Kommission erteilte ihr positives Votum zur intraoralen Untersuchung der Biofilmbildung auf Zahnschmelzproben mit anti-adhäsiven Oberflächenbeschichtungen mit dem Schreiben vom 12.01.2006 (GZ 283/03)

3.2 Materialien

3.2.1 Prüfkörpertrageschienen

Für die Probanden wurden individuelle Probetragekörpervorrichtungen in Form von partiellen Minioplastschienen für den Oberkieferseitenzahnbereich auf zuvor angefertigten Superhartgipsmodellen im Tiefziehverfahren aus Drufolon E (Dreve Dentamin GmbH) angefertigt. Die Schienen wiesen eine Stärke von 0,5 bis 0,7 mm auf. Diese individuellen Schienen wurden so angepasst, dass sie den Processus alveolaris und die Zähne vom Eckzahn bis zum dritten Molar umfassten, um so eine eindeutige und sichere Positionierung der Probekörpertrageschienen mit den Prüfkörpern während der intraoralen Exposition zu gewährleisten.

3.2.2 Prüfkörper

Zur Herstellung der Prüfkörper dienten frisch extrahierte Rinderfrontzähne, die zuerst in Thymol gelagert und während den verschiedenen folgenden Bearbeitungsschritten in 70%igem Propanol desinfiziert wurden. Hierzu wurden zuerst mit Hilfe einer Tischkreissäge unter Wasserkühlung mit einem diamantierten Sägeblatt die Zahnkronen abgetrennt und 5 x 5mm große Schmelzstücke aus den Labialflächen der Rinderfrontzähne gewonnen. Die Schmelzrohprobekörper wurden mit Nassschleifpapier bis hin zur Körnung „4000“ über Zwischenschritte mit den Körnungen „800“, „1200“ und „2400“ plan geschliffen und poliert. Dies erfolgte an einer Schleifmaschine (Gripo 2000, Buehler GmbH, Düsseldorf) mit rotierenden Nassschleifpapierscheiben unter Wasserkühlung bei 300 U/min. Die Prüfkörper wurden anschließend für 30 Minuten in 70% Propanol desinfiziert und anschließend in aqua dest. (Ecotainer; B. Braun Melsungen AG, D. Melsungen) bei 4°C gelagert.

Die Schmelzoberfläche der Prüfkörper wurde vor der anschließenden Beschichtung 30 s mit 36%igem Phosphorsäuregel geätzt und getrocknet. Die Prüfkörper wurden anschließend in mit Kunststoffdeckeln dicht verschlossenen Glasbehältern bis zu Beschichtung trocken gelagert.

3.2.3 Beschichtungszusammensetzung

Das Institut für Neue Materialien (Saarbrücken) übernahm die Beschichtung der Schmelzproben. Dort wurde das Beschichtungsmaterial mit einem Microbrush auf die geätzte Schmelzoberfläche appliziert und mittels Blaulicht (Astralis 10, Ivoclar, Schaan, Liechtenstein) über einen Zeitraum von jeweils 5 x 30 sec ausgehärtet. Die Beschichtung bestand aus den Monomeren resp. Vernetzern MMA, DPE, und V-545, denen als Füllstoff nanopartikuläres Böhmit (ca. 5 Gew.-%) zugesetzt war.

Die Beschichtungen fanden ohne Fluorsilan sowie mit normalem, doppeltem und vierfachem Fluorsilangehalt Anwendung (entsprechend 0 Gew.-%, 0,7 Gew.-%, 1,4 Gew.-% bzw. 2,8 Gew.-% Fluorsilan). Zum Vergleich wurden weitere Proben mit dem Nanokomposit MTKF, das thermisch gehärtet wurde, beschichtet.

Des Weiteren wurden in die Untersuchungen beschichtete Zahnschmelzprüfkörper einbezogen, die vor der intraoralen Exposition einer In-vitro-Zahnbürstenabration unterzogen worden waren. Die Prüfkörper wurden unter standardisierten Bedingungen in einer Zahnputzmaschine (Kulzer-Heraeus, Weinheim) über 5.000, 10.000, 20.000 oder 100.000 Zyklen (in Form von Bewegungen mit Sägezahnprofil) mit einer Zahnbürste (Medo-dent mittel, Auflagekraft: 200g) in einer Suspension aus Zahnpasta (Odol Med 3) und Wasser (Verhältnis 2:1) geputzt.

Nach Desinfektion in 70%igem Äthanol wurden die mit 5.000, 10.000, 20.000 bzw. 100.000 Zyklen abradierten Beschichtungsflächen intraoral exponiert.

3.2.4 Referenzproben

In jeder Versuchsreihe wurden neben den beschichteten Prüfkörper auch unbeschichtete Referenzproben aus poliertem Zahnschmelz sowie aus Keramik und Teflon getragen. Die Oberflächen der Referenzproben wurden mit Nassschleifpapier bis zu einer Oberflächenkörnung von „4000“ geschliffen

und poliert. Die Prüfkörper wurden vor der intraoralen Exposition, wie unter 2.2.2 beschrieben, desinfiziert.

3.2.5 Montage der Prüfkörper an den Tragevorrichtungen

Die Trageschienen wurden 10 Minuten in 70%igem Propanol desinfiziert, bevor die Prüfkörper aufgebracht wurden. Die Prüfkörper wurden sodann mit einem Silikon (President; Fa. Coltène, CH-Altstätten) jeweils 24 h vor Versuchsbeginn im Bereich der vestibulären Glattflächen der Prämolaren und Molaren an den Probekörpertrageschienen montiert. Es wurden jeweils 3 Prüfkörper vestibulär an einer Trageschiene befestigt. Die Befestigung erfolgte durch das Einbringen der Prüfkörper in die noch plastisch verformbare Silikonabdruckmasse mittels einer Pinzette, ohne die beschichtete Oberfläche zu berühren. Bis die Schienen von den Probanden in situ getragen wurden, lagerten sie in aqua dest. bei 4°C.

3.3 Intraorale Exposition/ In-situ-Biofilmbildung

3.3.1 Versuchsbedingungen zur Erzeugung des In-situ-Biofilms

Zur Erzeugung des In-situ-Biofilms wurden die auf den Prüfkörpertragevorrichtungen montierten Proben von den Probanden über einen Zeitraum von 24 h, 48 h oder 7 d intraoral getragen. Die Versuchsreihen starteten immer zwischen 8.00 und 9.00 Uhr morgens. Zu den Mahlzeiten wurden die Prüfkörpertragevorrichtungen entnommen und in einem Hygrophor bei 100% Luftfeuchtigkeit gelagert. Die Prüfkörper wurden während der intraoralen Exposition nicht mechanisch gereinigt. Nach Ablauf der intraoralen Exposition wurden die Prüfkörper entnommen, vorsichtig und kurz mit aqua dest abgespült, dann vorsichtig mit einer Sonde aus der Abdruckmasse entnommen, um die Oberfläche nicht zu verändern. Anschließend wurden die ent-

nommenen Prüfkörper in 2%igem Glutaraldehyd fixiert und für die raster-elektronenmikroskopischen Analysen im Critical-Point-Verfahren getrocknet. In einer ergänzenden Versuchsreihe wurden beschichtete Zahnschmelzproben sowie unbeschichteter Zahnschmelz, Keramik- und Teflonprüfkörper nach der intraoralen Exposition und Entnahme aus der Mundhöhle (d.h. ex vivo) mit dem Wasserspray aus der Multifunktionsspritze einer zahnärztlichen Behandlungseinheit für 10 s intensiv abgesprüht. Diese Versuchsreihe hatte zum Ziel, die „easy-to-clean“-Eigenschaften der Beschichtungsflächen bei definiertem Absprühen (unter dem Einfluss von Scherkräften) zu untersuchen.

3.3.2 Systematik der Versuchsreihen

1. Versuchsreihe: Untersuchung der Biofilmbildung auf Referenzproben, (unbeschichteter Zahnschmelz, Keramik, Teflon) Tragedauer in situ 24 h, 48 h oder 7 d
2. Versuchsreihe: Untersuchung der Biofilmbildung auf beschichteten Proben, Tragedauer in situ 24 h, 48 h oder 7 d
3. Versuchsreihe: Untersuchung der „easy-to-clean“-Eigenschaften der Beschichtungen und Referenzproben durch Absprühen mit einer zahnärztliche Multifunktionsspritze, Tragedauer in situ 24 h, 48 h oder 7 d
4. Versuchsreihe: Untersuchung der Biofilmbildung auf beschichteten Proben nach Zahnbürstenabrasion, Tragedauer in situ 24 h

3.4 Rasterelektronenmikroskopische Analyse

Die fixierten und getrockneten Prüfkörper wurden auf Aluminiumprobenteller aufgeklebt und mit Platin besputtert. Die rasterelektronenmikroskopischen Analysen erfolgten in einem Elektronenmikroskop des Typs Quanta 200 (FEI Philips, Eindhoven, Niederlande) bzw. des Typs ESEM XL 30 FEG

(FEI, Philips, Eindhoven, Niederlande) bei 400- bis 20.000facher Vergrößerung.

4. Ergebnisse

4.1 Versuchsreihe 1: Untersuchung der Biofilmbildung auf Referenzproben

4.1.1 Unbeschichtete Referenzproben aus Zahnschmelz

Auf den unbeschichteten Zahnschmelzproben war nach 24-stündiger und 48-stündiger intraoraler Exposition die Bildung eines mehrlagigen bakteriellen Biofilms festzustellen. Eingebettet in eine dichte interbakterielle Matrix fanden sich kokkenförmige, aber auch stäbchenförmige Bakterien (Abb. 1 und 2).

Nach siebentägiger Tragezeit in der Mundhöhle waren die Schmelzproben von einem dichten, mehrlagigen bakteriellen Biofilm aus überwiegend kokkenförmigen Bakterien überzogen. (Abb.3)

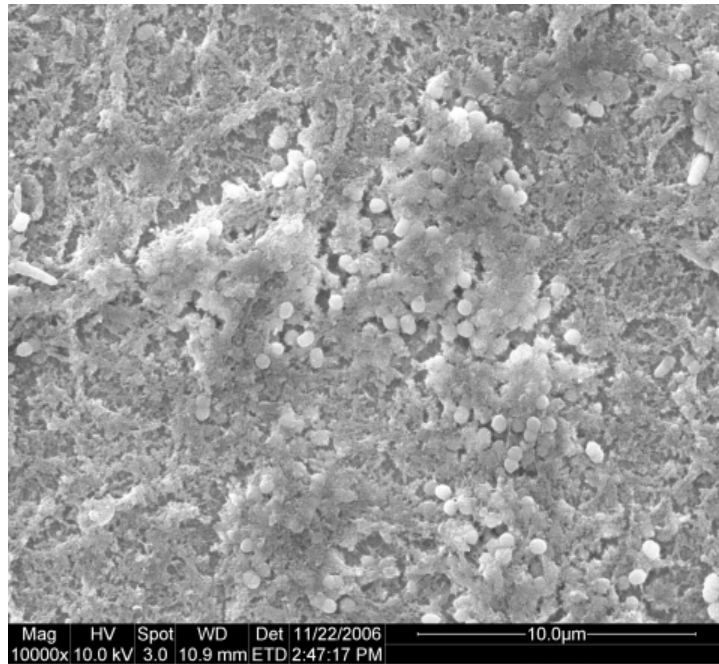


Abb. 1, 24 h-Biofilmbildung auf Zahnschmelz. Auf dem unbeschichteten Zahnschmelz ist ein mehrlagiger bakterieller Biofilm sichtbar, der die Zahnschmelzoberfläche lückenlos überzieht. Auf der Aufnahme sind überwiegend Kokken sowie einige stäbchenförmige Mikroorganismen sichtbar, die in eine dichte interbakterielle Matrix eingebettet sind. Vergrößerung 10.000fach.

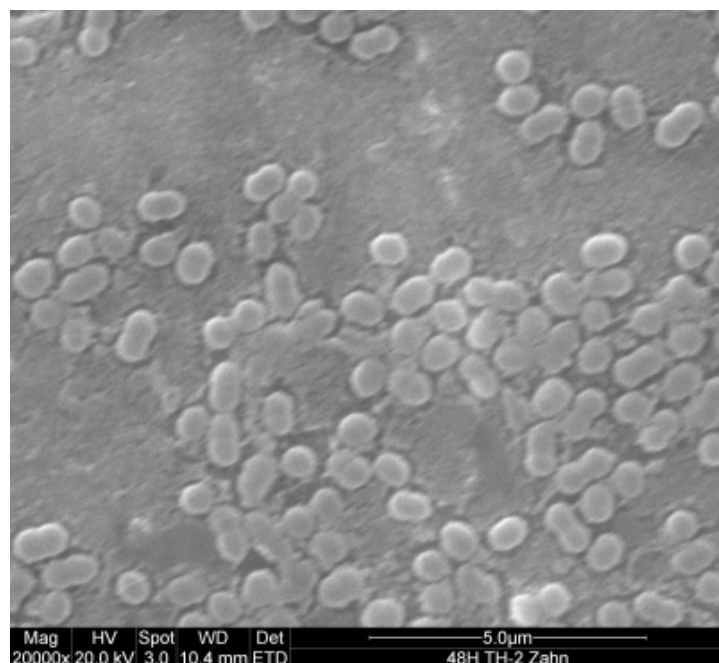


Abb. 2, 48 h-Biofilmbildung auf Zahnschmelz. Gut sichtbar sind die einzelnen kokkoiden Bakterien auf der Oberfläche des Biofilms, der den gesamten Zahnschmelz bedeckt. Vergrößerung: 20.000 fach.

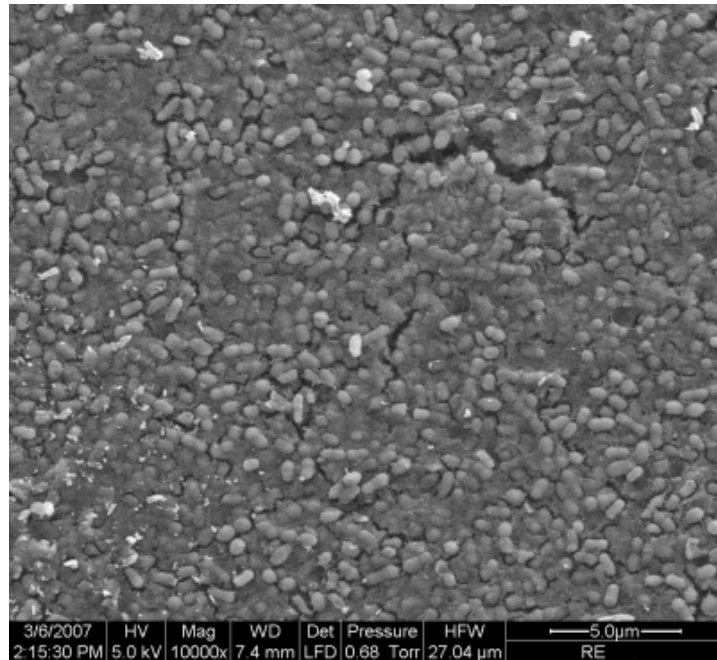


Abb. 3, 7 d-Biofilmbildung auf Zahnschmelz. Auf dem unbeschichteten Zahnschmelz überzieht ein mehrlagiger bakterieller Biofilm lückenlos die Prüfkörperoberflächen. Die Mikroorganismen sind in eine dichte interbakterielle Matrix eingebettet. Im Biofilm finden sich vor allem Kokken. Vergrößerung: 10.000 fach.

4.1.2 Referenzproben aus Vergleichsmaterialien (Keramik und Teflon)

Auf den Referenzoberflächen (Keramik und Teflon) war nach 24 h- und 48 h-stündiger intraoraler Exposition ein mehrlagiger Biofilm festzustellen (Abb. 4 -7). Auf den Teflonproben befand sich der 24 h- und 48 h-Biofilm häufig im Stadium der partiellen Ablösung von der Oberfläche (Abb. 5 und 6)

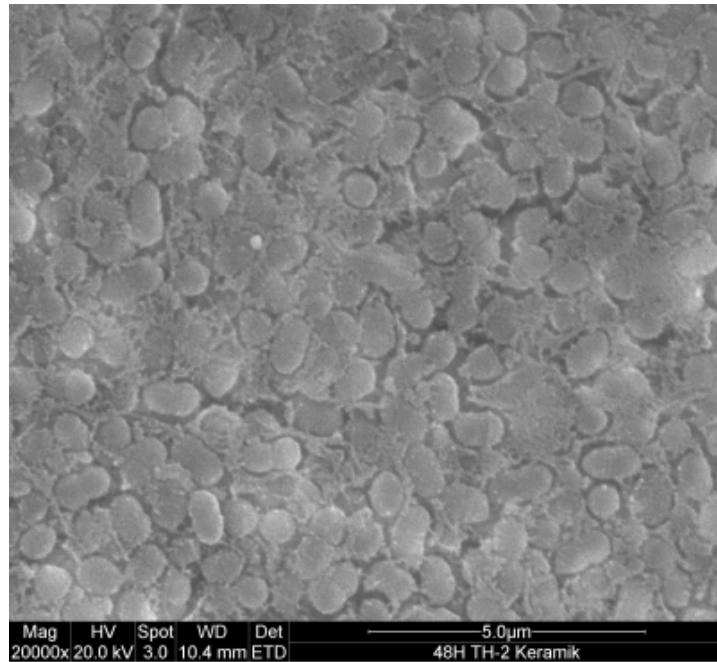


Abb. 4, 48 h-Biofilmbildung auf Keramik. Die Keramikoberfläche ist vollständig von einem bakteriellen Biofilm bedeckt. Die Mikroorganismen sind in eine dichte interbakterielle Matrix eingebettet. Vergrößerung 20.000 fach

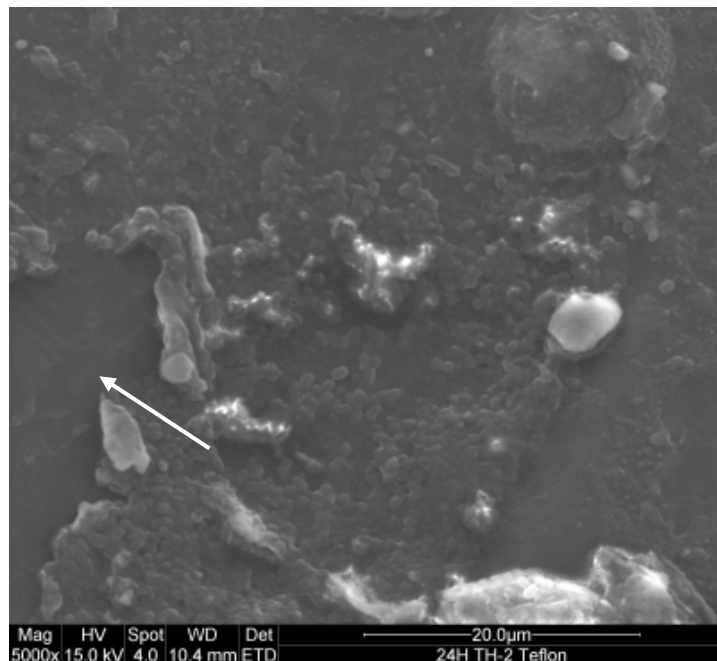


Abb. 5, 24 h-Biofilmbildung auf Teflon. Die Biofilmbildung ist deutlich inhomogener als bei den Zahnschmelz- und Keramikproben. Der Biofilm erscheint aufgeworfen und an einigen Stellen von der Oberfläche abgelöst, hier ist die Teflonoberfläche sichtbar. An der Biofilmoberfläche sind nur vereinzelt kokkenförmige Mikroorganismen zu erkennen. Vergrößerung: 5.000 fach

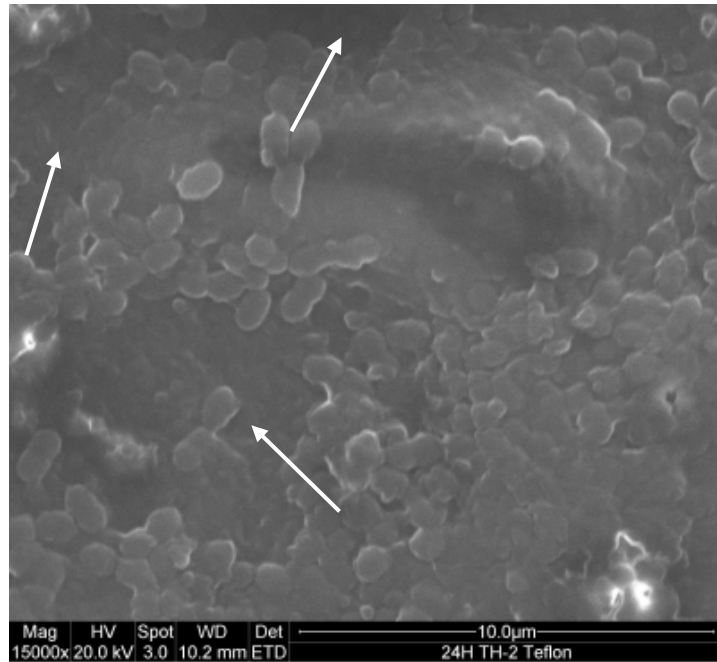


Abb. 6, 24 h-Biofilmbildung auf Teflon. In der höheren Vergrößerung wird die unregelmäßige bakterielle Besiedlung sichtbar und es sind Areale erkennbar, die nicht von Bakterien besiedelt sind (Pfeile). Der Biofilm erscheint aufgeworfen und an einigen Stellen von der Oberfläche abgelöst (Pfeile). Vergrößerung 15.000-fach

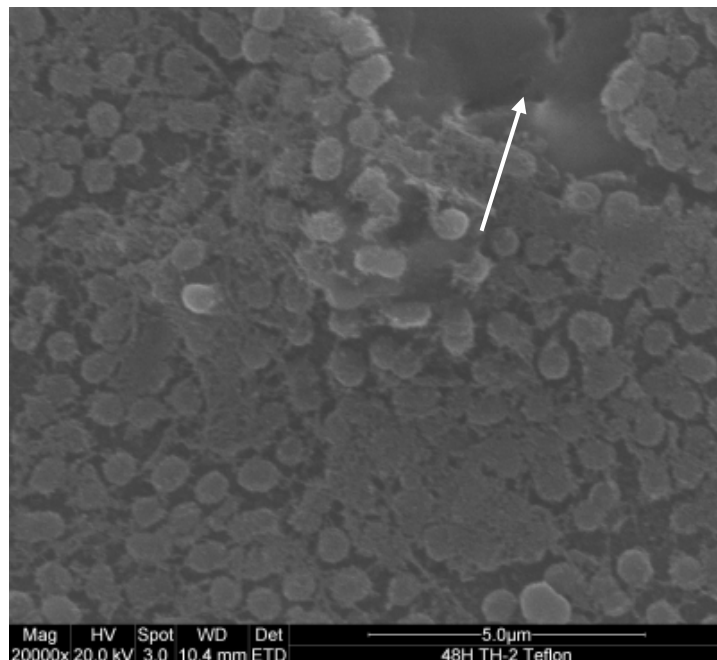


Abb. 7, 48 h-Biofilmbildung auf Teflon. Die bakterielle Besiedlung ist nach 48h weiter vorangeschritten, zum Teil befindet sich der Biofilm im Stadium der Ablösung, so dass die glatte Teflonoberfläche sichtbar wird (Pfeil). Vergrößerung 20.000-fach

4.2 Versuchsreihe 2: Untersuchung der Biofilmbildung auf beschichteten Schmelzproben

Auf allen beschichteten Schmelzproben war nach 24-stündiger intraoraler Exposition im Vergleich zu den nicht beschichteten Schmelzreferenzproben eine deutlich verringerte Biofilmbildung festzustellen. (Abb. 8 -10, 12-15).

Unabhängig vom Fluorsilangehalt war nach 24-stündiger Tragezeit auf den Beschichtungsoberflächen häufig nur eine Schicht aus adsorbierten Speichelproteinen (Pellicel) mit vereinzelt anhaftenden Bakterien zu detektieren (Abb. 8 -10, 12-15).

Nach 48-stündiger Exposition waren wiederum unabhängig vom Fluorsilangehalt der Beschichtung generell sehr dünne, häufig einlagige bakterielle Biofilme zu finden (Abb. 16,18,21). Ebenso konnte das partielle Ablösen des Biofilms von der Beschichtungsoberfläche festgestellt werden. (Abb. 16,18).

Dieses Phänomen des „Abschilfern“ des in-situ gebildeten Biofilms von der Beschichtungsoberfläche war deutlich ausgeprägt bei den Beschichtungen mit einfachem und doppeltem Fluorsilangehalt (Abb. 12-16, 18-21) und zeigte sich besonders imposant auf den Beschichtungsoberflächen mit vierfachem Fluorsilangehalt (Abb. 23-26). In den Bereichen, wo sich der Biofilm abgelöst hatte, war die glatte Beschichtungsoberfläche sichtbar. Ein partielles „Abschilfern“ des Biofilms von der Beschichtungsoberfläche war allerdings auch bei Beschichtungen ohne Fluorsilanzusatz festzustellen (Abb. 9, 10)

Im Gegensatz dazu war auf den über 7 Tage in der Mundhöhle getragenen Beschichtungsoberflächen keine reduzierte bzw. modifizierte Biofilmbildung nachweisbar (Abb. 11, 17, 22, 27). Nach siebentägiger Verweilzeit in der Mundhöhle waren die Beschichtungsoberflächen (ähnlich wie der unbeschichtete Zahnschmelz) von einem dichten mehrlagigen bakteriellen Biofilm aus vorwiegend kokkenförmigen Mikroorganismen überzogen (Abb. 11, 17, 22, 27). Ablösungsphänomene des Biofilms von der Beschichtungsoberfläche ließen sich bei den über 7 Tagen intraoral getragenen Proben nicht feststellen.

4.2.1 Beschichtete Schmelzproben (ohne Fluorsilanzusatz)



Abb. 8, 24 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung ohne Fluorsilanzusatz. Die Prüfkörperoberfläche ist mit einem dichten bakteriellen Biofilm bedeckt, allerdings zeigen sich einige kleinere Areale, in denen eine teilweise Ablösung des Biofilms vorliegt, so dass die Beschichtungsoberfläche sichtbar ist (Pfeile). Vergrößerung: 400fach

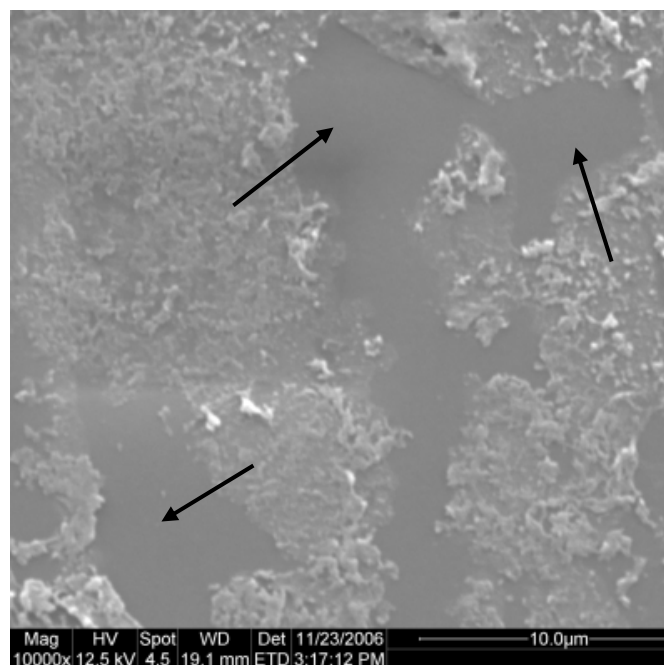


Abb. 9, 24 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung ohne Fluorsilanzusatz. Die Beschichtungsoberfläche ist partiell von einer Proteinschicht (Pellicel) bedeckt, in einigen Bereichen (Pfeile) ist auf der Beschichtungsoberfläche kein Biofilm zu erkennen. Vergrößerung: 10.000 fach

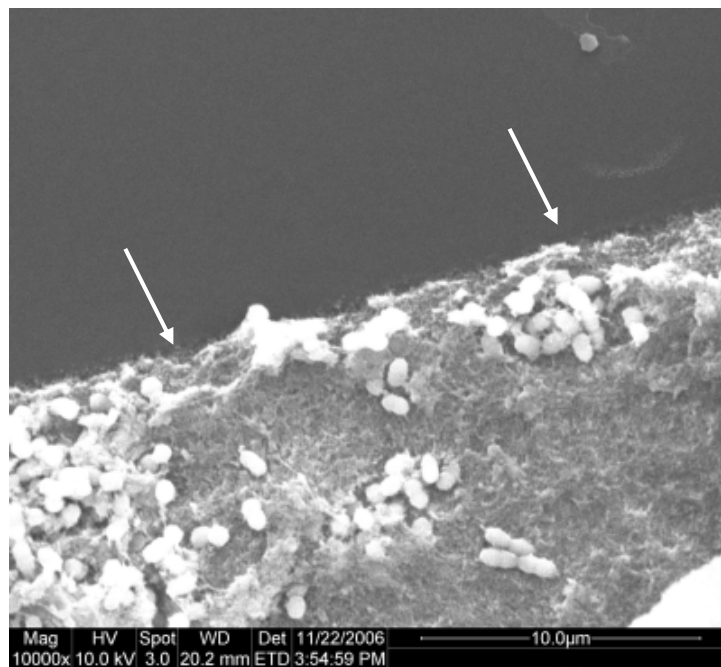


Abb. 10, 24 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung ohne Fluorsilanzusatz. Grenzbereich zwischen biofilmbedeckter und biofilmfreier Beschichtungsoberfläche. Eingebettet in die Biofilmmatrix sowie an der Oberfläche des Biofilms finden sich kokkenförmige Mikroorganismen. Vergrößerung: 10.000 fach

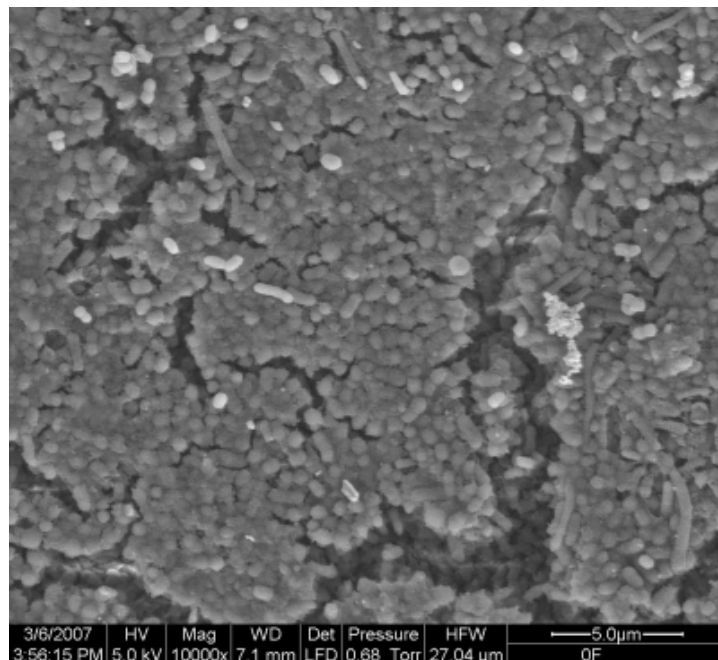


Abb. 11, 7 d-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung ohne Fluorsilanzusatz. Es ist ein dichter, mehrlagiger und ausgereifter Biofilm sichtbar, der von kokkoiden Bakterien dominiert wird, z.T. sind auch stäbchenförmige Bakterien zu erkennen. Vergrößerung: 10.000 fach

4.2.2 Beschichtete Schmelzproben (mit einfachem Fluorsilanzusatz)

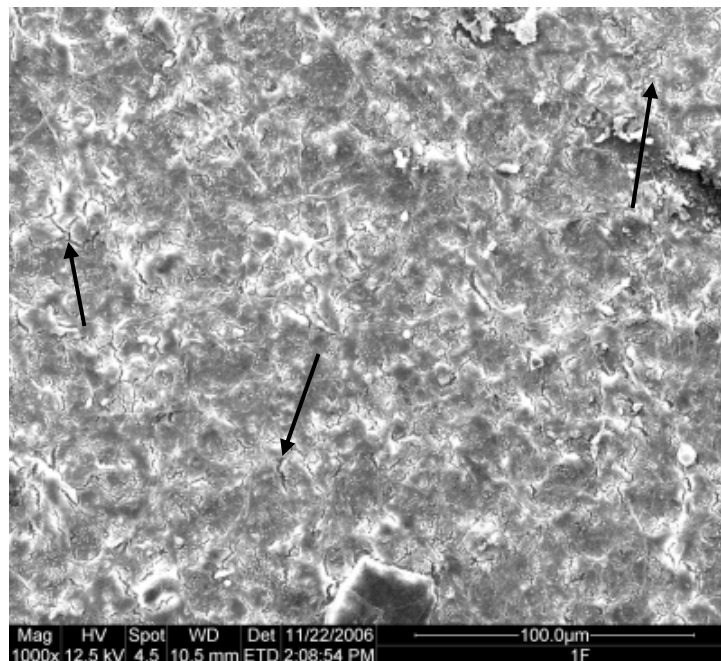


Abb. 12, 24 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz, Beschichtung mit einfachem Fluorsilanzusatz. Auf dieser Aufnahme imponiert ein dünner, gewellter, aber mit langen Rissen überzogener, weitgehend bakterienfreier Biofilm. Auf der mit einfachem Fluorsilanzusatz versehenen Oberfläche erscheinen auch einige Areale ohne erkennbaren Biofilm (Pfeile). Vergrößerung: 1.000 fach

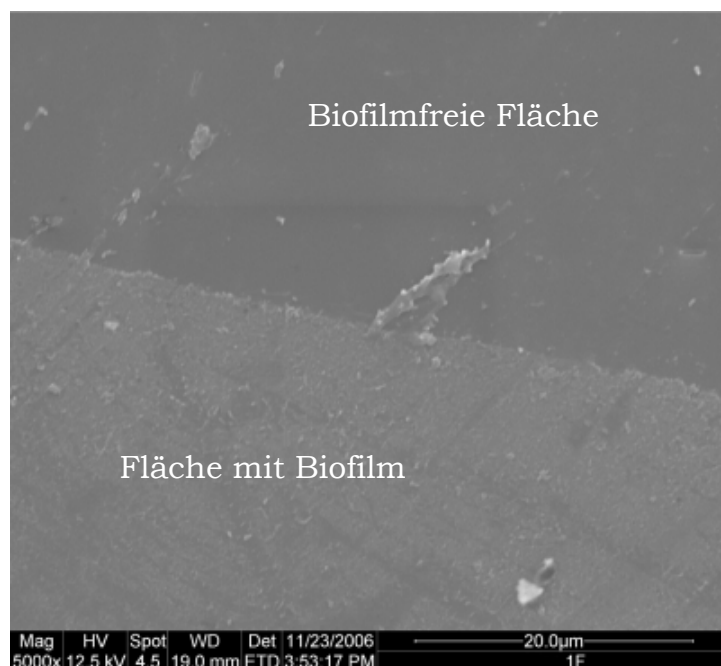


Abb. 13, 24 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit einfachem Fluorsilanzusatz. Auf dieser Aufnahme ist deutlich zu erkennen, dass die Prüfkörperoberflä-

che nur zum Teil mit einer Proteinschicht (initialer Biofilm) bedeckt ist, das andere Areal scheint frei von Biofilm zu sein. Vergrößerung: 5.000 fach

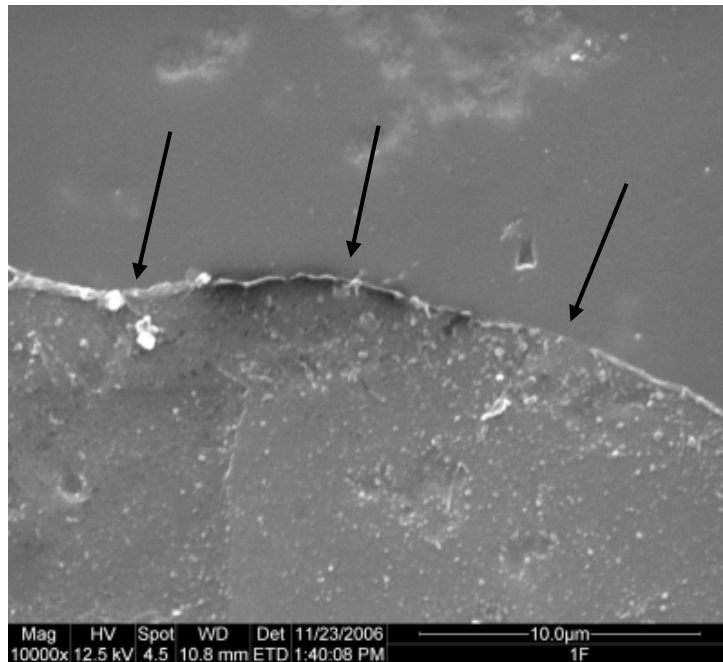


Abb. 14, 24 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit einfachem Fluorsilanzusatz. Es ist deutlich die Abrisskante zwischen adsorbiertem Proteinfilm (initialer Biofilm) und biofilmfreier Beschichtungsoberfläche zu erkennen. Vergrößerung 10.000 fach

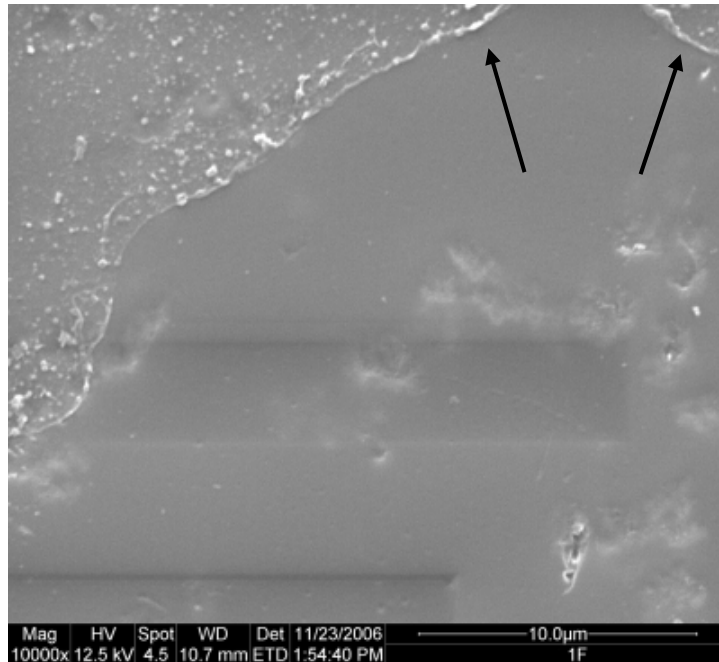


Abb. 15, 24 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit einfachem Fluorsilanzusatz. Die Prüfkörperoberfläche ist partiell von einem dünnen Biofilm (Pellikelschicht) überzogen (links oben), ansonsten finden sich Areale ohne rasterelektronenmikroskopisch erkennbaren Biofilm, so dass die glatte Beschichtungs Oberfläche sichtbar ist. Die Pfeile markieren die Grenze zwischen Pellikel und biofilmfreier Beschichtungs Oberfläche. Vergrößerung: 10.000 fach

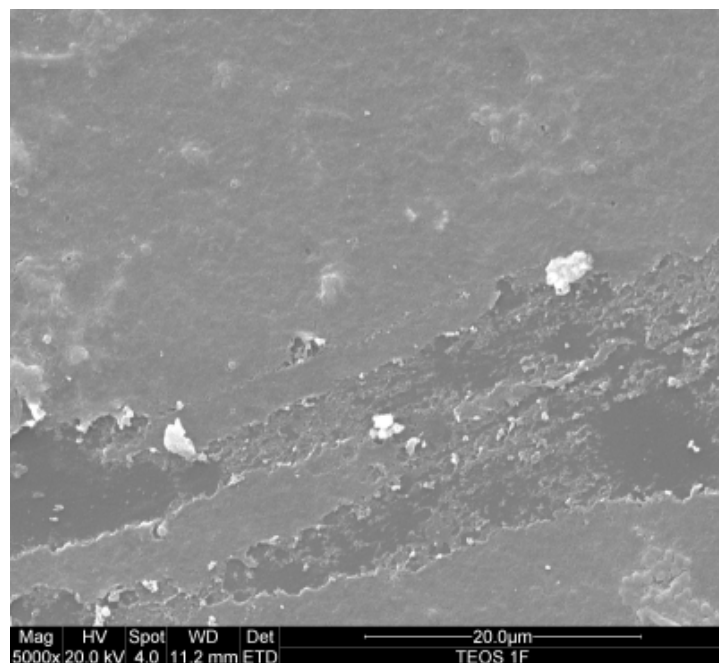


Abb. 16, 48 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit einfachem Fluorsilanzusatz. Die von der Pellikelschicht überzogene Oberfläche liegt teilweise frei, adhärenente Bakterien sind nur vereinzelt auszumachen. Vergrößerung: 5.000 fach

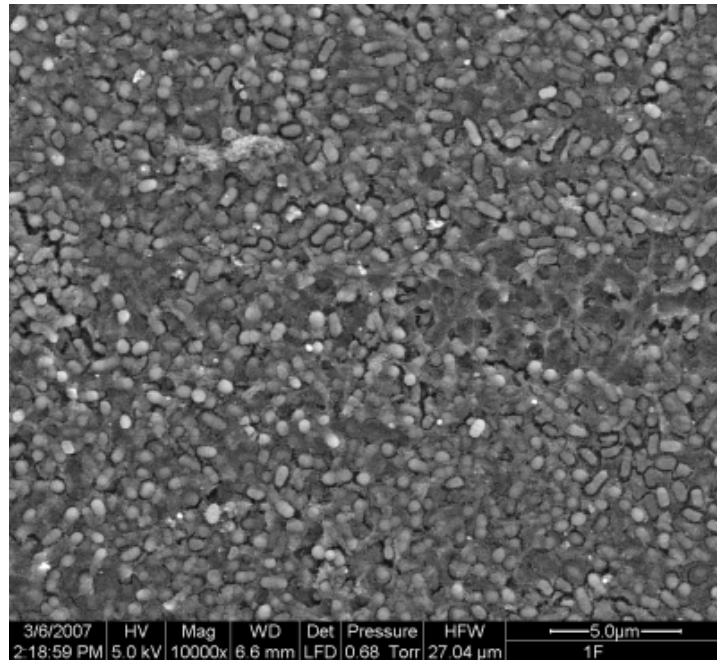


Abb. 17, 7 d-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit einfachem Fluorsilanzusatz. Es ist ein dichter und geschlossener Biofilm erkennbar, der die Oberfläche des Prüfkörpers vollständig bedeckt. Es sind überwiegend kokkoide Bakterien zu erkennen. Vergrößerung: 10.000 fach

4.2.3 Beschichtete Schmelzproben (mit zweifachem Fluorsilanzusatz)

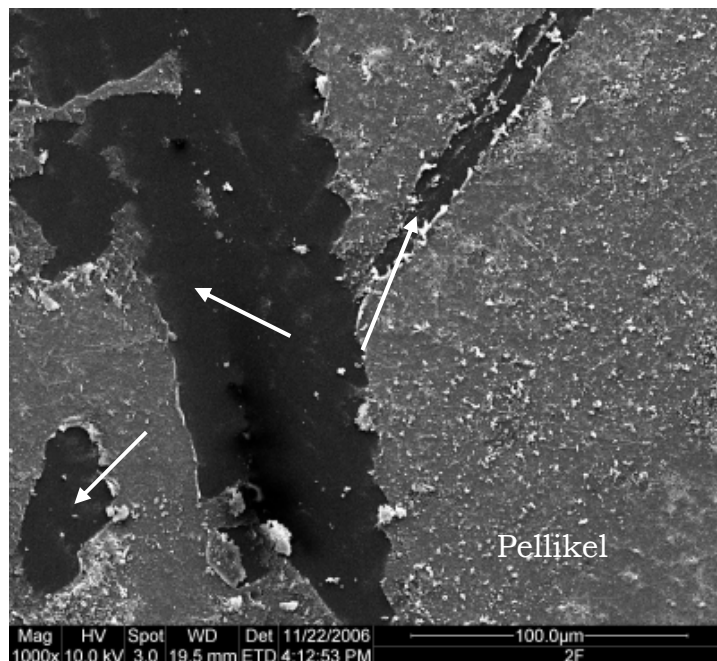


Abb. 18, 48 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit zweifachem Fluorsilanzusatz. Auf der Prüfkörperoberfläche befinden sich Bereiche ohne erkenn-

baren Biofilm (Pfeile) sowie Areale, die mit einem dünnen, löchrigen Biofilm (Pellikel) bedeckt sind. An der Pellikeloberfläche sind einzelne Bakterien zu erkennen. Vergrößerung: 1.000 fach

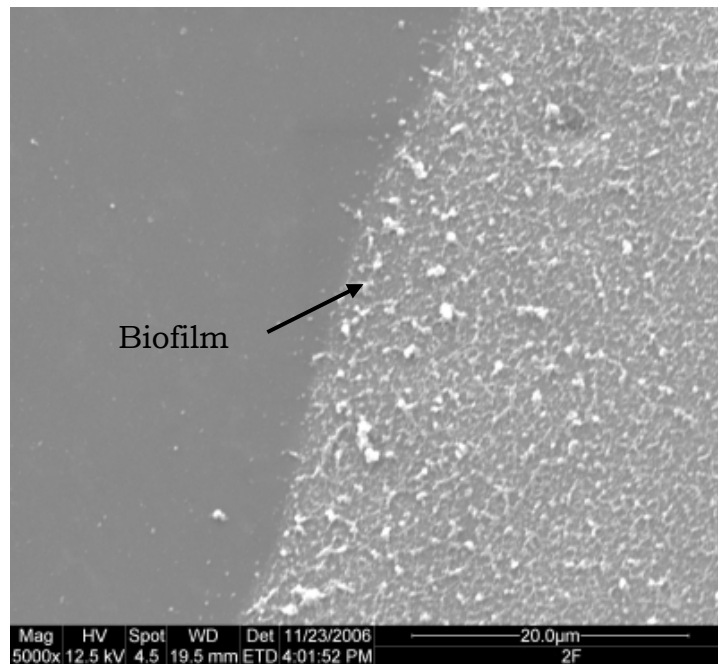


Abb. 19, 24 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit zweifachem Fluorsilanzusatz. Diese Aufnahme zeigt die Pellikelschicht (Pfeil) und die geringe Besiedlung mit Mikroorganismen auf der rechten Seite der Probe, wobei links die Beschichtungsoberfläche freiliegt. Vergrößerung: 5.000 fach

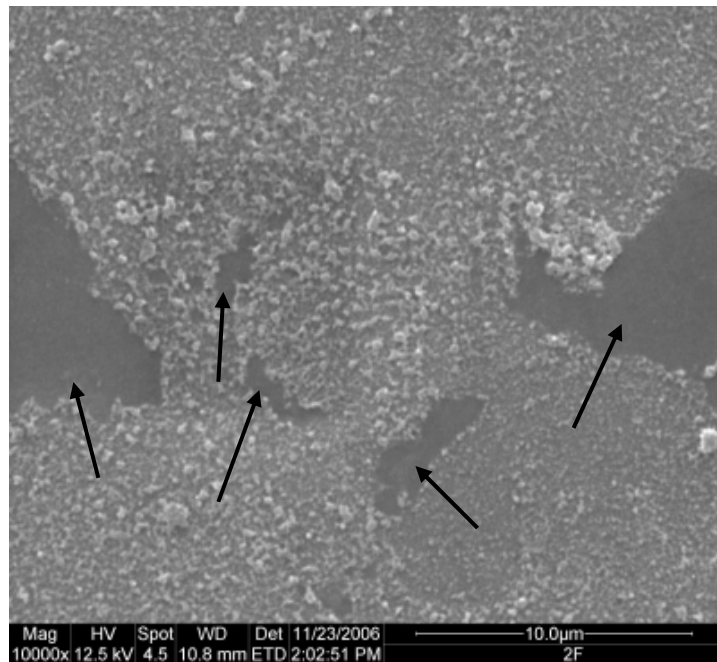


Abb. 20, 24 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit zweifachem Fluorsilanzusatz. Auf der mit zweifachen Fluorsilanzusatz beschichteten Oberfläche imponiert ein dünner, mit wenigen Mikroorganismen besiedelter Biofilm, der in einigen Bereichen unterbrochen und von der Oberfläche bereits abgelöst ist (Pfeile). Vergrößerung: 10.000 fach

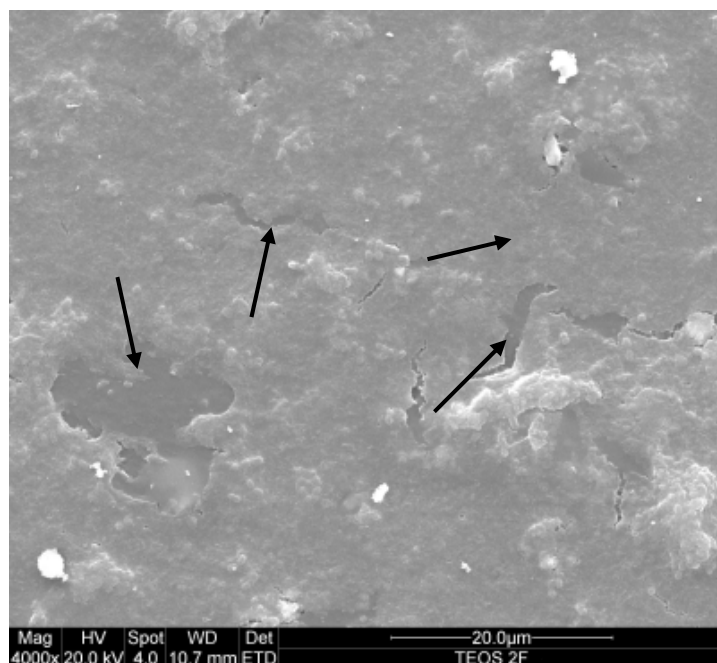


Abb. 21, 48 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit zweifachem Fluorsilanzusatz. Es lässt sich ein dünner, an einigen Stellen aufgerissener Biofilm mit ungleichmäßig verteilter bakterieller Besiedlung erkennen. Die Pfeile markieren die biofilmfreie Beschichtungsoberfläche. Vergrößerung: 4.000 fach

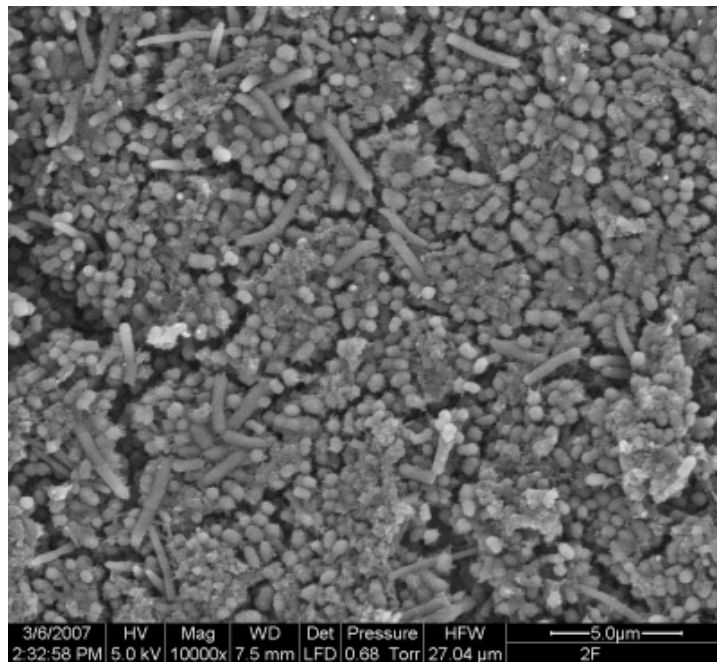


Abb. 22, 7 d-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit zweifachem Fluorsilanzusatz. Es ist ein dichter und mehrlagiger Biofilm erkennbar, der durch stäbchenförmige und kokkoide Bakterien dominiert wird. Vergrößerung: 10.000 fach

4.2.4 Beschichtete Schmelzproben (mit vierfachem Fluorsilanzusatz)

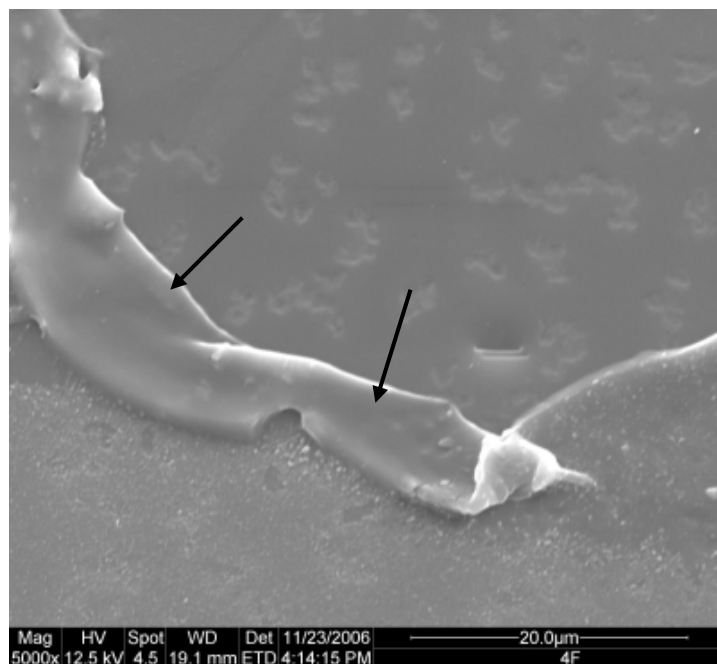


Abb. 23, 24 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit vierfachem Fluorsilanzusatz. Der Biofilm (untere Bildhälfte) ist vergleichsweise dünn und weist nur we-

nige adhärenente Bakterien auf. In dieser Vergrößerung ist besonders deutlich die glatte und homogene Unterseite des Biofilmes zu erkennen, dort, wo er auf den noch festhaftenden Biofilm aufgrund von Abschilferungsprozessen umgeschlagen ist (Pfeile). In der oberen Bildhälfte ist die biofilmfreie Beschichtungsoberfläche sichtbar. Vergrößerung: 5.000 fach

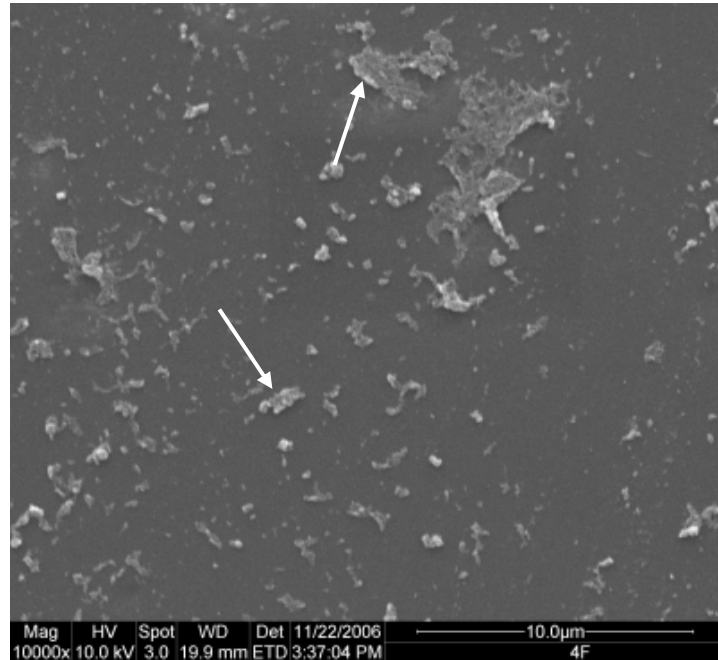


Abb. 24, 24 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit vierfachem Fluorsilanzusatz. Auf diesen Aufnahmen sind einzelne Biofilminseln (Pfeile) sichtbar, die bei einer Ablösung des umgebenden Biofilms zurückblieben und sich im Stadium der Ablösung befinden. Ansonsten erscheint die Beschichtungsoberfläche weitgehend biofilmfrei bzw. nur von einer dünnen Pellikelschicht bedeckt zu sein. Vergrößerung: 10.000 fach

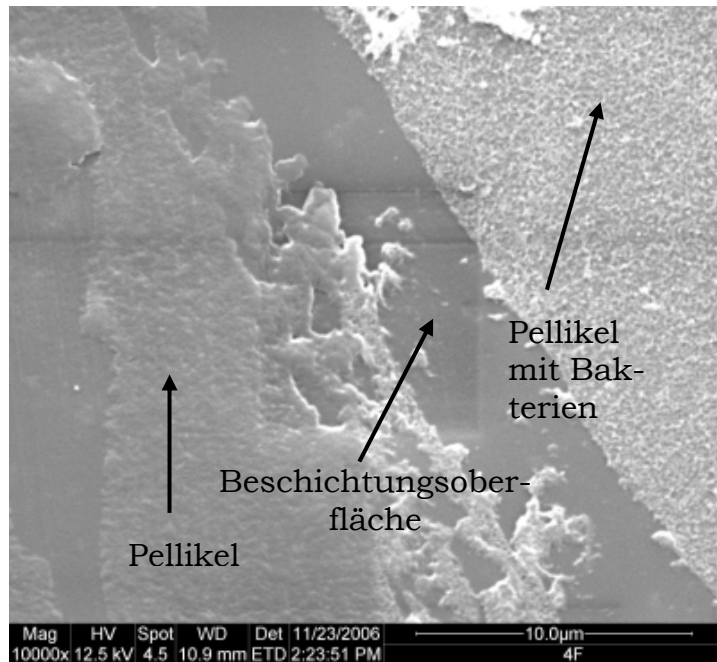


Abb. 25, 24 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit vierfachem Fluorsilanzusatz. Es sind Areale erkennbar, an denen die Beschichtungsoberfläche sichtbar wird. Im linken Teil der Aufnahme dominiert die Pellikel ohne Bakterienbesiedlung, während im rechten vereinzelt Bakterien auf der Pellikel sichtbar sind. Vergrößerung: 10.000 fach

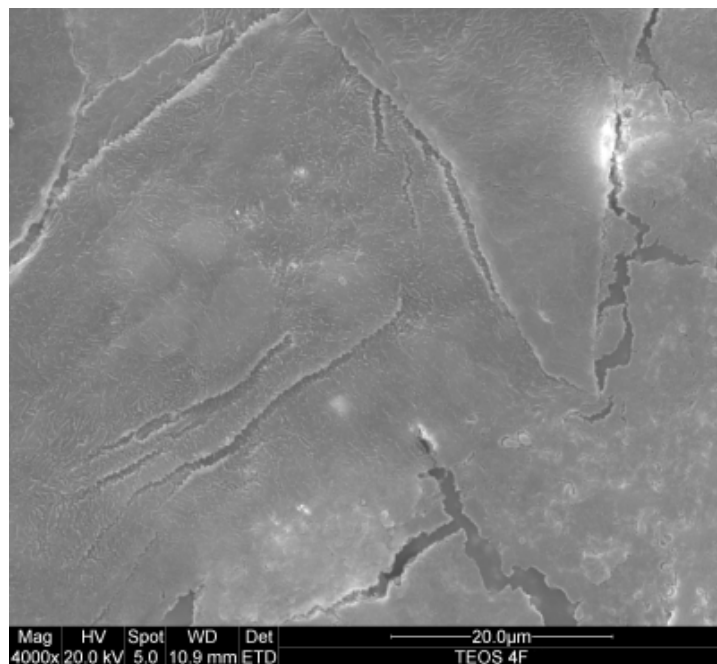


Abb. 26, 48 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit vierfachem Fluorsilanzusatz. Die Oberfläche ist von einem dünnen Biofilm (Pellikel) überzogen mit vereinzelt „Rissbildungen“, an denen die Beschichtungsoberfläche erkennbar ist. Vergrößerung: 4.000 fach

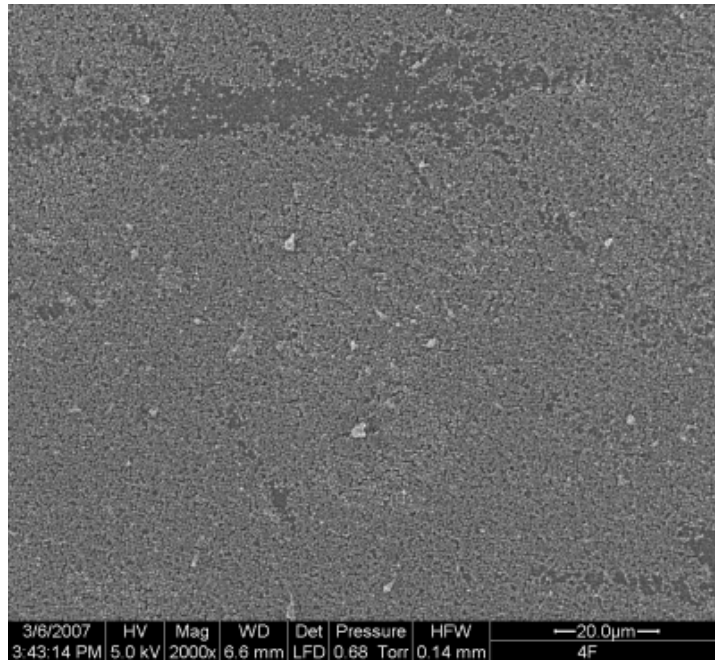


Abb. 27, 7 d-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz. Beschichtung mit vierfachem Fluorsilanzusatz. Es ist ein dichter, weitgehend geschlossener, homogener Biofilm mit einzelnen adhärenen Bakterien zu erkennen. Vergrößerung: 2.000 fach

4.3 Versuchsreihe 3: Untersuchung der Biofilmbildung mit anschließendem Absprühen

Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung ergab, dass durch das Absprühen mit der Multifunktionsspritze der 24 h- bzw. 48 h-Biofilm von den Teflonproben vollständig entfernt wurde (Abb. 30, 31). Während auf den Keramik- und Zahnschmelzproben mit 24 h- bzw. 48 h- In-situ-Biofilmen nach dem Absprühen ein dichtes Proteinnetzwerk (Pellikel) mit eingebetteten Bakterien zurückblieb (Abb. 28, 29).

4.3.1 Vergleichsproben (Keramik, Zahnschmelz, Teflon)

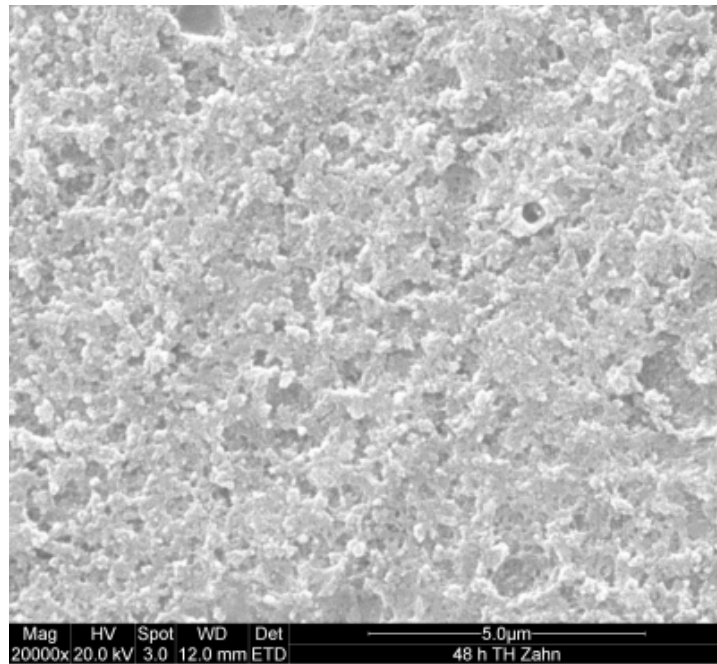


Abb. 28, 48 h-Biofilmbildung auf unbeschichtetem Zahnschmelz, nach Absprühen. Residualer 48 h-Biofilm auf unbeschichtetem Zahnschmelz nach Absprühen mit einer zahnärztlichen Multifunktionsspritze. Die Oberfläche ist vollständig von einer residualen Biofilmschicht (Pellicel) bedeckt, durch das Absprühen wurden die meisten Bakterien in der oberen Schicht des Biofilms entfernt, sodass die adsorbierte Proteinschicht sichtbar ist. Vergrößerung: 20.000 fach

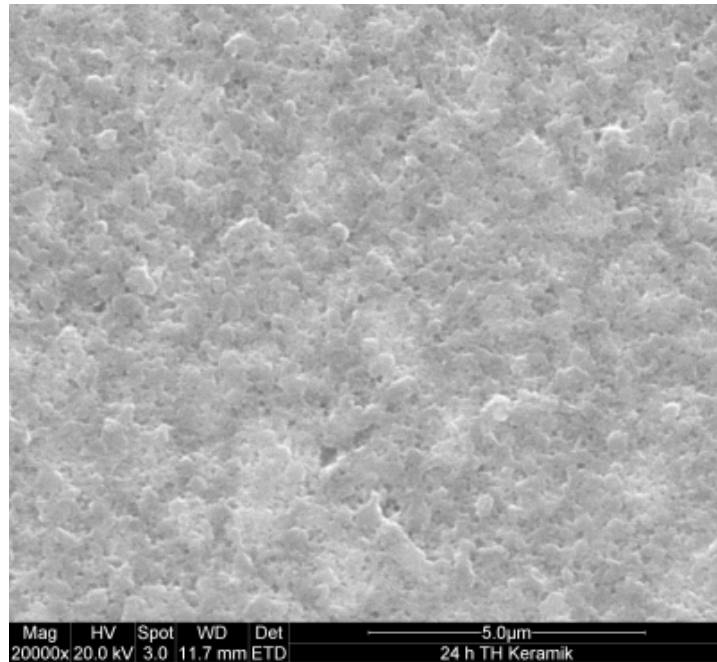


Abb. 29, 24 h-Biofilmbildung auf Dentalkeramik, nach Absprühen. Keramikprobe mit 24 h-Restbiofilm nach Absprühen mit einer zahnärztlichen Multifunktionsspritze. Es sind nur noch einzelne Bakterien auf der Schicht aus adsorbierten Proteinen sichtbar. Vergrößerung: 20.000 fach

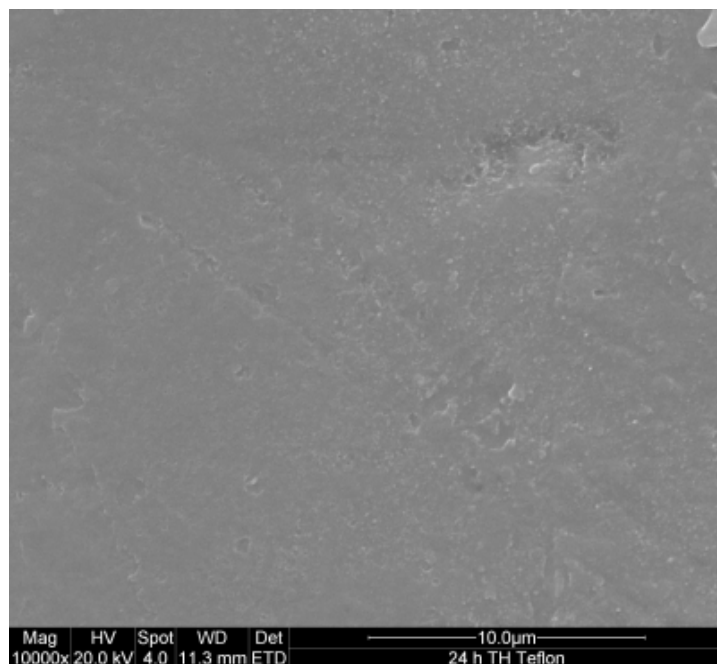


Abb. 30, 24 h-Biofilmbildung auf Teflonoberfläche, nach Absprühen. Residualer Biofilm auf Teflon nach Absprühen mit einer zahnärztlichen Multifunktionsspritze. Die Oberfläche ist nur noch von einer dünnen Pellikelschicht bedeckt. Vergrößerung: 10.000 fach

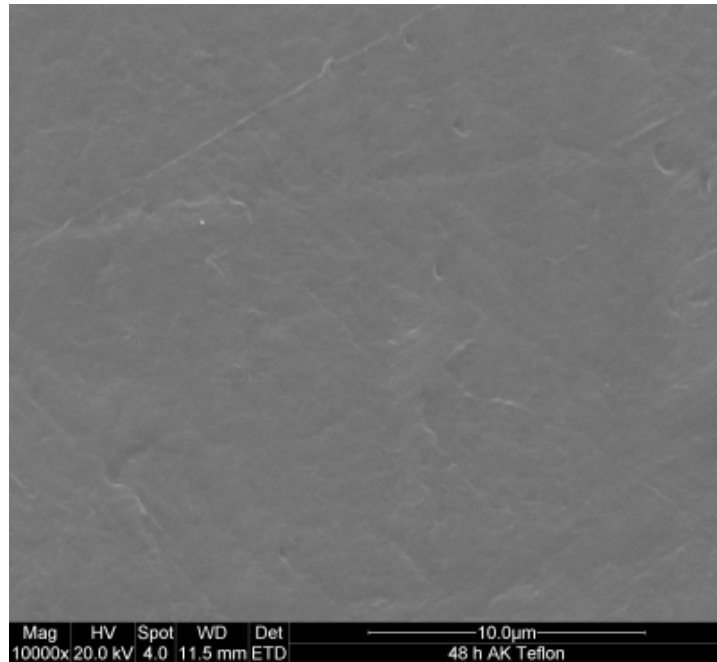


Abb. 31, 48 h-Biofilmbildung auf Teflonoberfläche, nach Absprühen. Residualer 48 h-Biofilm auf Teflon nach Absprühen mit einer zahnärztlichen Multifunktionsspritze. Auf der Teflonprobe sind nur noch Reste einer Proteinschicht zu erkennen, somit konnte fast der komplette Biofilm mit allen anhaftenden Bakterien durch das Absprühen entfernt werden. Vergrößerung: 10.000 fach

4.3.2 Beschichtete Schmelzproben nach Absprühen mit der Multifunktionsspritze der zahnärztlichen Behandlungseinheit

Die rasterelektronenmikroskopische Analyse der Beschichtungsoberflächen, die nach der 24-stündigen oder 48-stündigen Exposition in der Mundhöhle mit dem Wasserspray aus der Multifunktionsspritze der zahnärztlichen Behandlungseinheit abgesprüht worden waren, ergab, dass der bakterielle Biofilm durch das Absprühen vollständig von den Beschichtungsoberflächen entfernt worden war (Abb. 32-37). Auf den Beschichtungsoberflächen verblieb nur noch ein Netzwerk aus Proteinen (Pellikel) (Abb. 32-37).

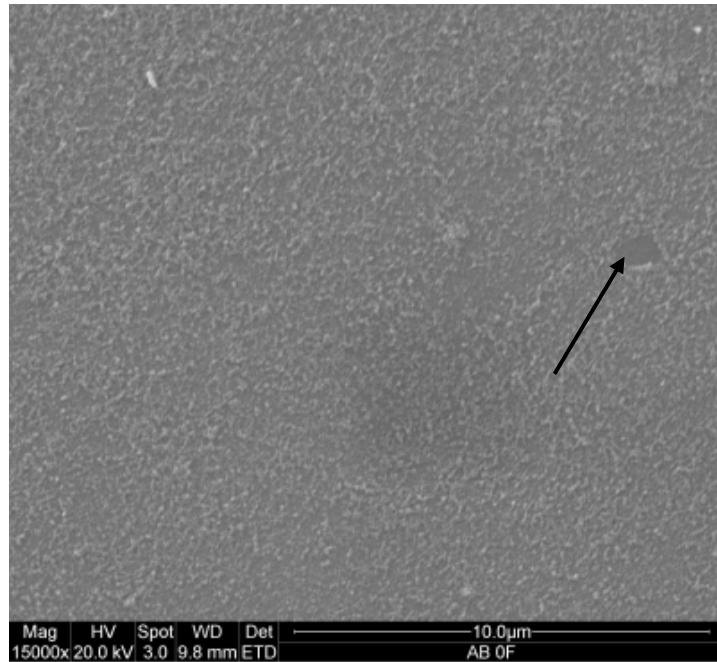


Abb. 32, 48 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz, ohne Fluorsilanzusatz, nach Absprühen. Residualer 48 h-Biofilm auf beschichtetem Zahnschmelz nach Absprühen. Es sind keine Bakterien sichtbar. Die Oberfläche wird nur von einer dünnen Proteinschicht (Pellicel) bedeckt. Zum Teil ist die Beschichtungsoberfläche erkennbar (Pfeil). Vergrößerung 15.000 fach

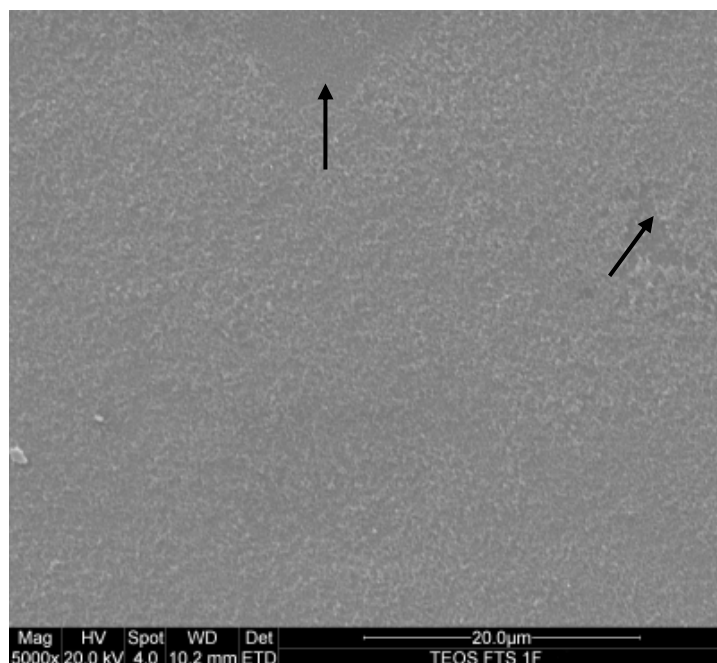


Abb. 33, 48 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz, mit einfachem Fluorsilanzusatz, nach Absprühen. Es verbleibt nach dem Absprühen eine dünne Proteinschicht, die Unterbrechungen aufweist, in denen die Beschichtungsoberfläche sichtbar wird (Pfeile). Vergrößerung 5.000 fach

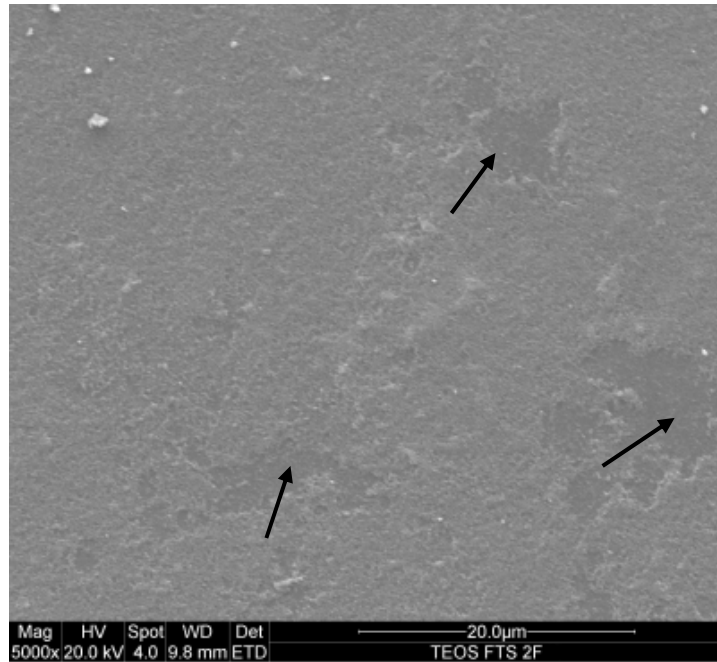


Abb. 34, 48 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz, mit zweifachem Fluorsilanzusatz, nach Absprühen. Es verbleibt nach dem Absprühen eine dünne Proteinschicht, die größere „Fehlstellen“ aufweist, in denen die Beschichtungsoberfläche sichtbar ist und die Proteinschicht komplett abgelöst wurde (Pfeile). Vergrößerung 5.000 fach

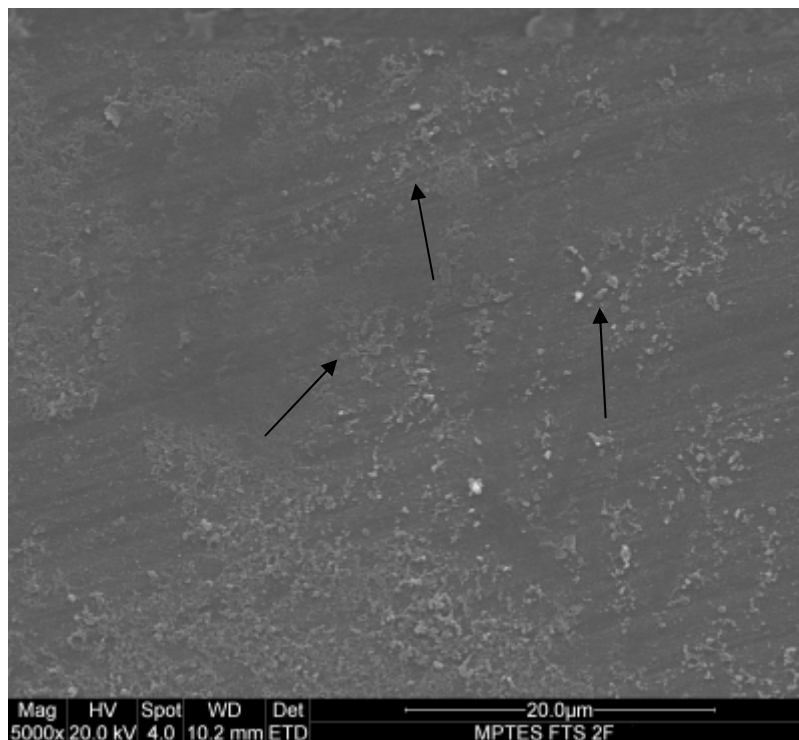


Abb. 35, 48 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz, mit zweifachem Fluorsilanzusatz, nach Absprühen. Die Beschichtungsoberfläche ist großflächig sichtbar. Die zurück-

bleibende Proteinschicht ist stark reduziert, teilweise sind nur noch vereinzelte Pellicelinseln zu erkennen (Pfeile). Vergrößerung 5.000 fach

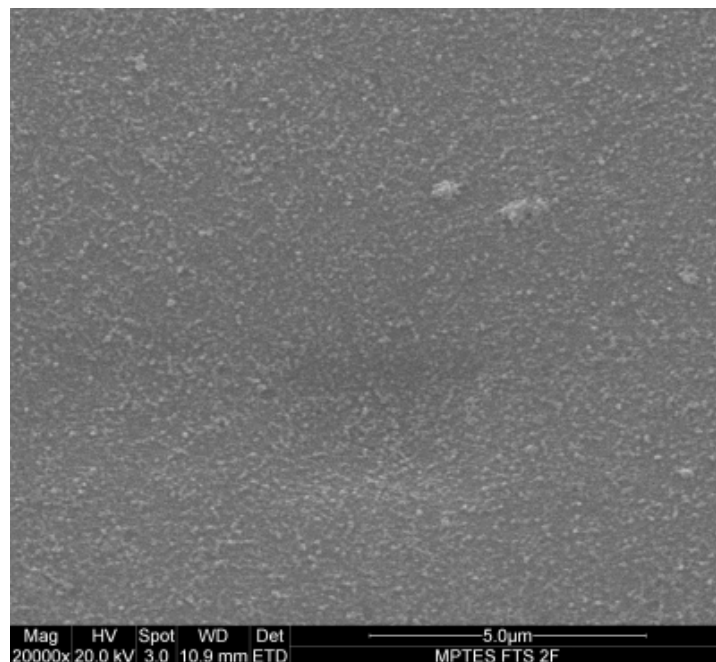


Abb. 36, 48 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz, mit zweifachem Fluorsilanzusatz, nach Absprühen. Es verbleibt nach dem Absprühen eine dünne homogene Proteinschicht, die weitgehend ohne Unterbrechung ist und die gesamte Oberfläche bedeckt. Vergrößerung 20.000 fach

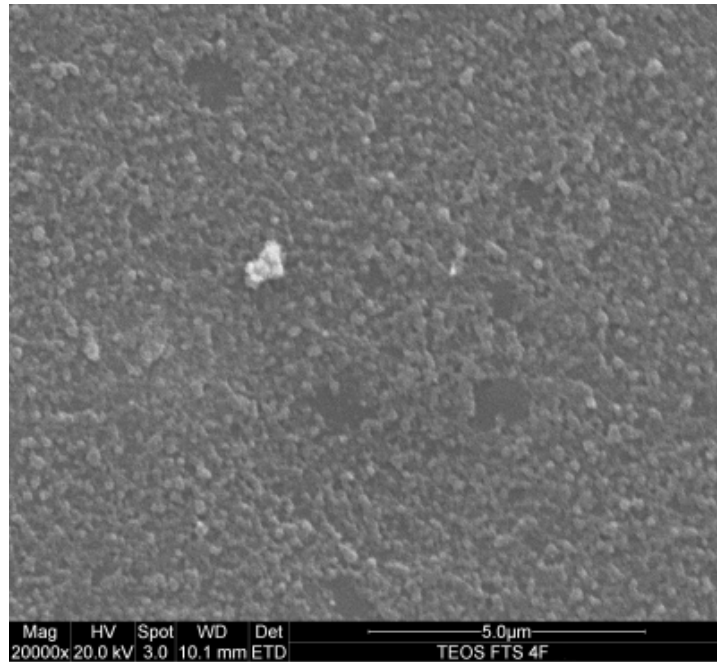


Abb. 37, 48 h-Biofilmbildung auf beschichtetem Zahnschmelz, mit vierfachem Fluorsilanzusatz, nach Absprühen. Es sind einzelne Areale sichtbar, in denen die Beschichtungs Oberfläche freiliegt, die restliche Oberfläche ist von einer dünnen Schicht aus adsorbierten Proteinen bedeckt. Es sind keine adhärenenten Bakterien zu erkennen. Vergrößerung 20.000 fach

4.4 Versuchsreihe 4: Biofilmbildung auf beschichteten Schmelzproben nach Zahnbürstenabrasion

Nach der In-vitro-Zahnbürstenabrasion mit 5.000, 10.000 und 20.000 Zyklen und nachfolgender intraoraler Exposition über 24h waren die Beschichtungsoberflächen von einer Proteinschicht (Pellikel) mit nur wenigen adhärenenten Bakterien überzogen (Abb. 38-50). Im Fall der mit 100.000 Zyklen abradierten Beschichtungsoberflächen ließen sich nach 24-stündiger Tragezeit der Proben auch bakterielle Mikrokolonien feststellen. Weder der Fluorsilangehalt der Beschichtungen, noch die Zahl der Bürstzyklen (5.000, 10.000 bzw. 20.000) hatten einen rasterelektronenmikroskopisch nachweisbaren Einfluss auf das Muster der 24 h-Biofilmbildung auf den abradierten Beschichtungsoberflächen (Abb. 38-50).

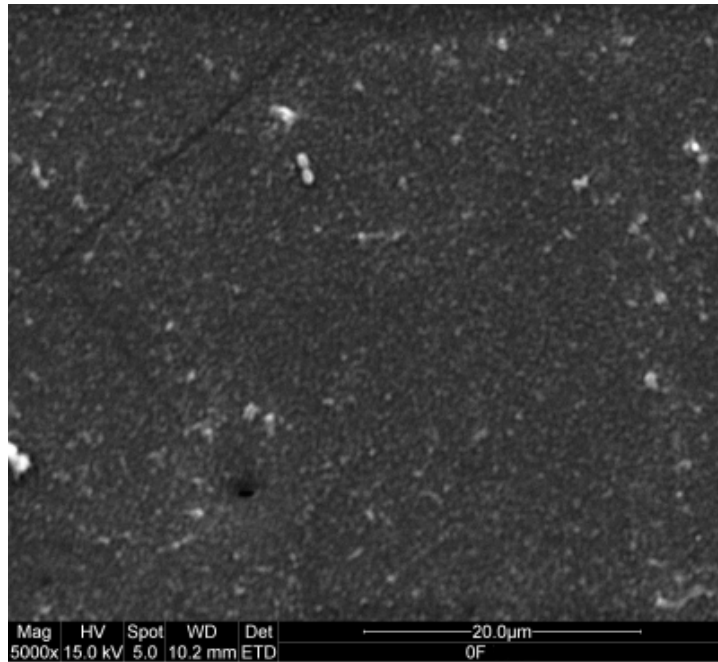


Abb. 38, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (5.000 Zyklen), ohne Fluorsilanzusatz. Die Prüfkörperoberfläche ist von einer Pellikelschicht mit einzelnen adhärennten kokkenförmigen Bakterien überzogen. Vergrößerung 5.000 fach

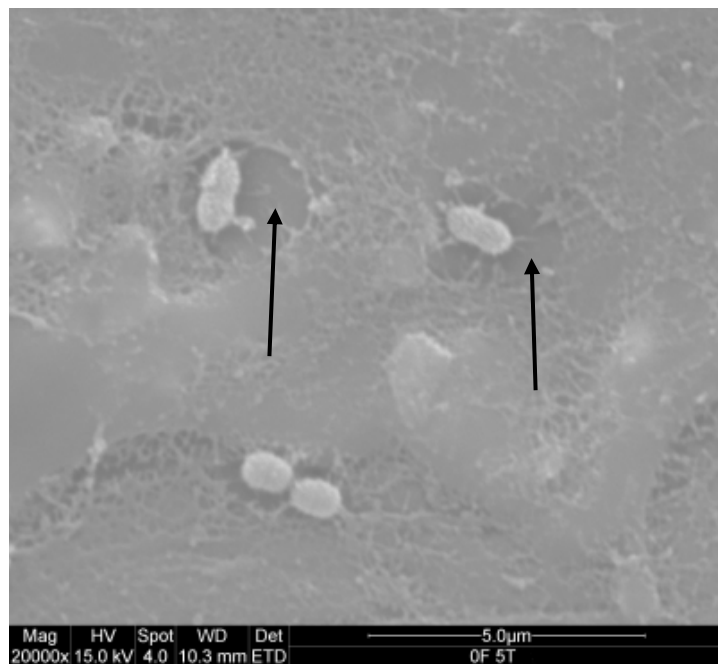


Abb. 39, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (5.000 Zyklen), ohne Fluorsilanzusatz. In dieser Vergrößerung sind die einzelnen kokkoiden Bakterien, z.T. im Stadium der Zellteilung sowie die netzartige Struktur der adsorbierten Proteinschicht (Pellikel) deutlich auszumachen. Vergrößerung 20.000 fach

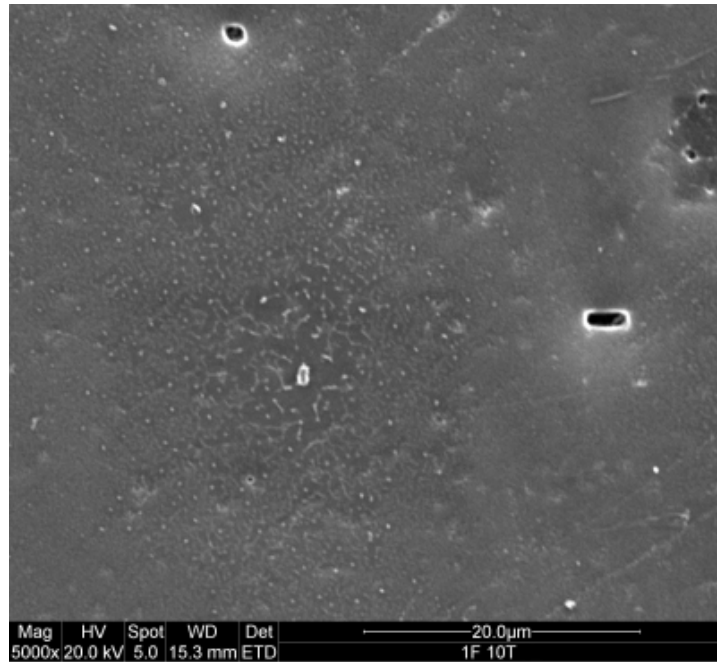


Abb. 40, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (10.000 Zyklen), mit einfachem Fluorsilanzusatz. Die Oberfläche ist von einer Schicht aus adsorbierten Proteinen (Pellikel) überzogen. Vergrößerung 5.000 fach

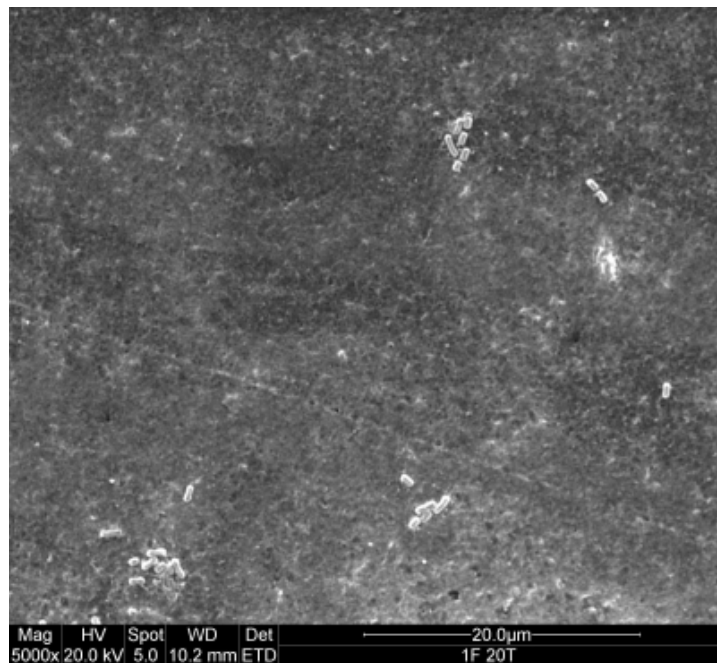


Abb. 41, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (20.000 Zyklen), mit einfachem Fluorsilanzusatz. Die Beschichtungsoberfläche ist von einer dünnen Proteinschicht bedeckt, auf der sich einige adhärenente kokkoide Bakterien befinden. Vergrößerung 5.000 fach

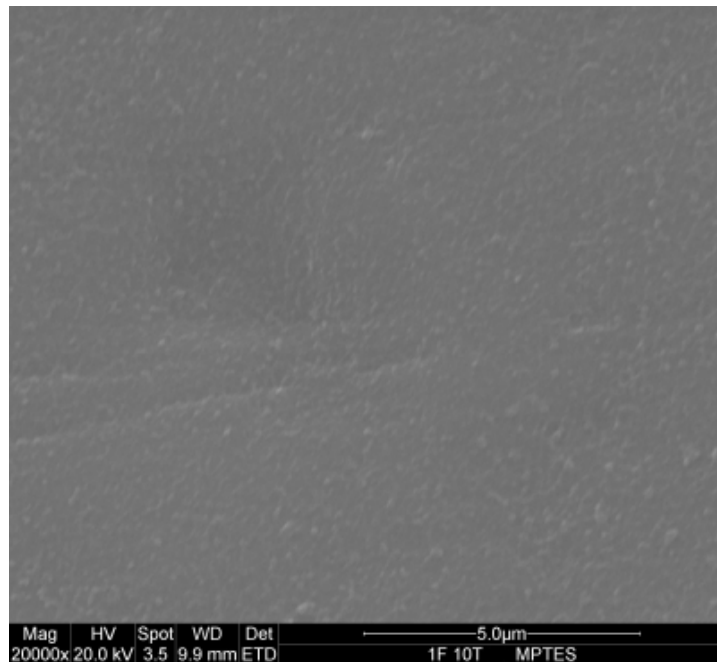


Abb. 42, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (10.000 Zyklen), mit einfachem Fluorsilanzusatz. Die Oberfläche ist von einer dünnen Pellicelschicht überzogen. Es sind keine Bakterien auszumachen. Vergrößerung 20.000 fach

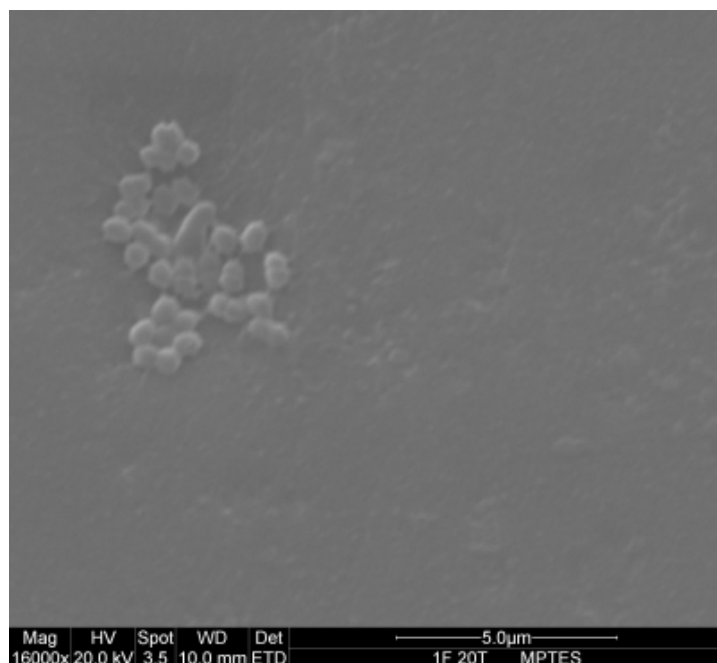


Abb. 43, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (20.000 Zyklen), mit einfachem Fluorsilanzusatz. In dieser Aufnahme ist eine dünne Pellicelschicht sichtbar, auf der eine Anhäufung kokkoider Bakterien imponiert. Vergrößerung 16.000 fach

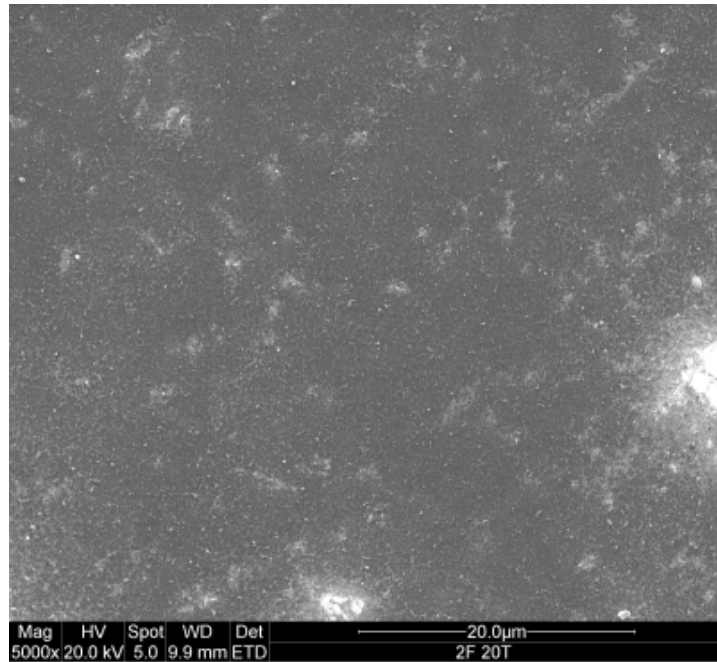


Abb. 44, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (20.000 Zyklen), mit zweifachem Fluorsilanzusatz. Die Oberfläche ist von einem dünnen Biofilm (Pellicel) komplett bedeckt. Vergrößerung 5.000 fach

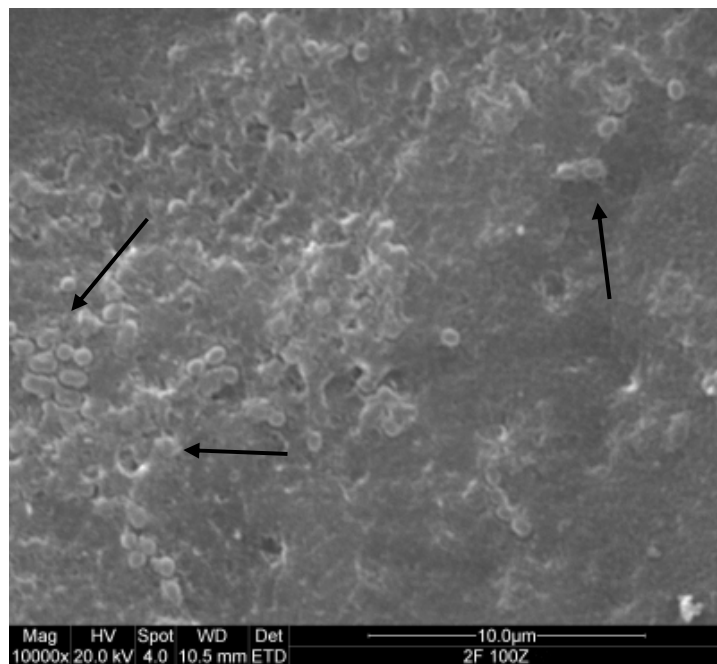


Abb. 45, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (100.000 Zyklen), mit zweifachem Fluorsilanzusatz. In dieser Aufnahme ist eine inhomogene Schicht aus adsorbierten Proteinen (Pellicelschicht) sichtbar, auf der einzelne kokkoide Bakterien sichtbar sind. Vergrößerung 10.000 fach

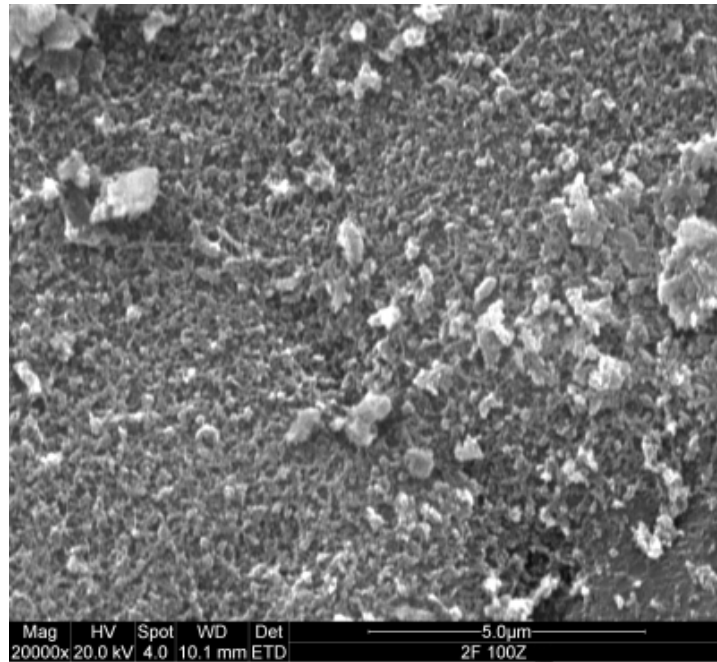


Abb. 46, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (100.000 Zyklen), mit zweifachem Fluorsilanzusatz. Die Prüfkörperoberfläche ist von einer Pellikelschicht mit einzelnen adhärennten Bakterien bedeckt. Vergrößerung 20.000 fach

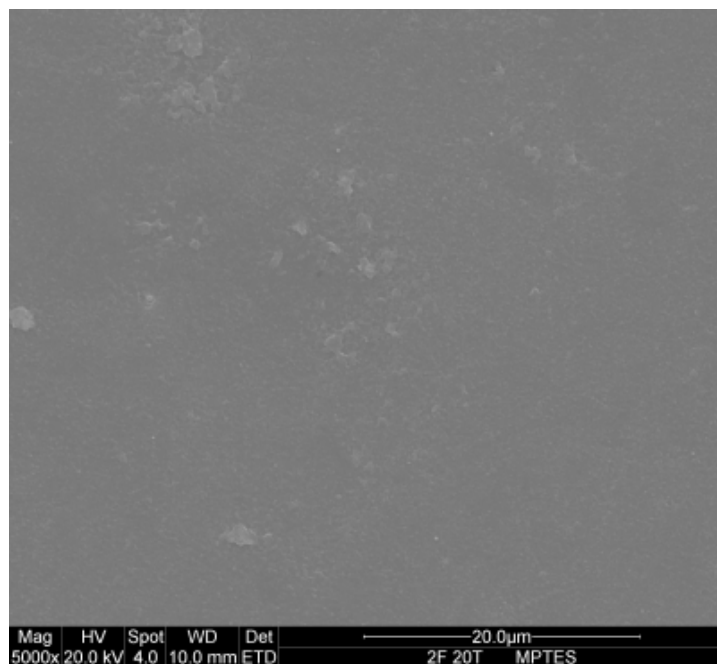


Abb. 47, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (20.000 Zyklen), mit zweifachem Fluorsilanzusatz. Die Prüfkörperoberfläche ist von einer Schicht aus adsorbierten Speichelproteinen bedeckt. Vergrößerung: 5.000 fach

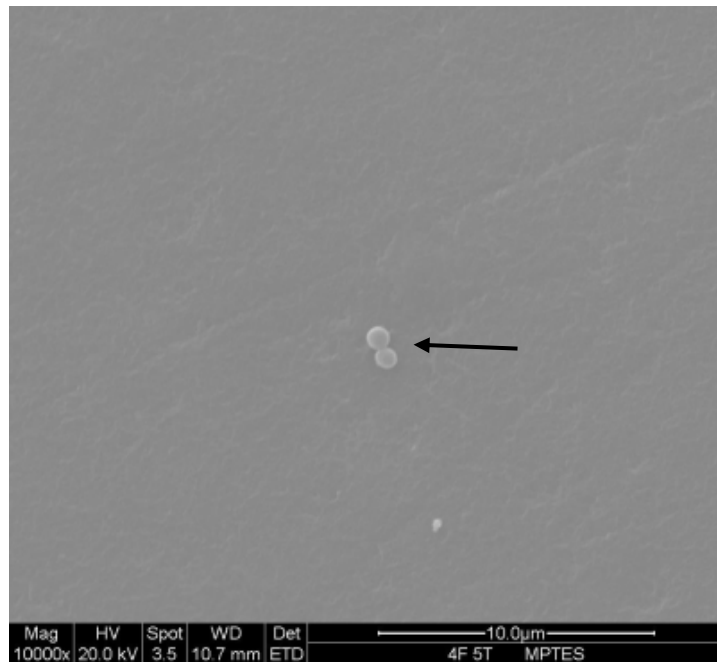


Abb. 48, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (5.000 Zyklen), mit vierfachem Fluorsilanzusatz. Dieser Aufnahme ist eine dünne Proteinschicht mit einzelnen kokkoiden Bakterien sichtbar (Pfeil). Vergrößerung: 10.000 fach

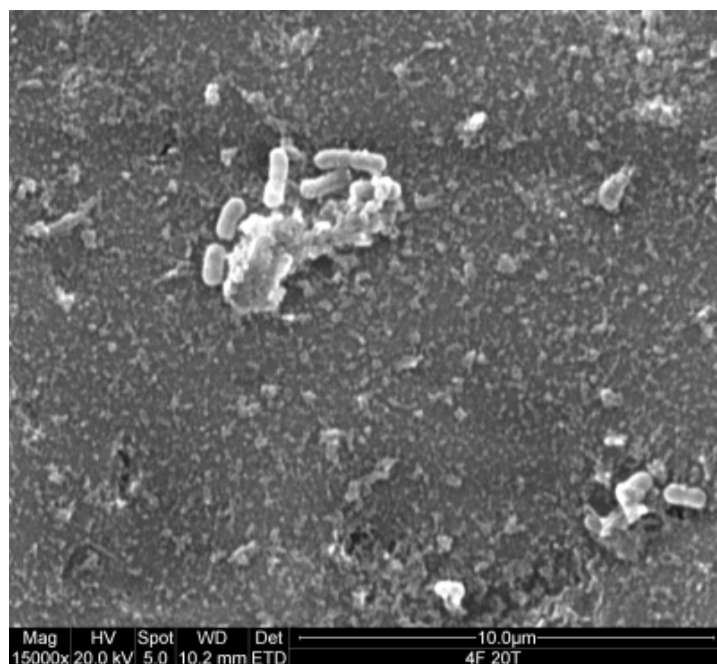


Abb. 49, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (20.000 Zyklen), mit vierfachem Fluorsilanzusatz. Auf der Prüfkörperoberfläche imponiert eine dünne Schicht aus adsorbierten Speichelproteinen (Pellikel). An der Pellikeloberfläche adhären einzelne kokkenförmige Mikroorganismen, die sich z.T. im Stadium der Teilung befinden. Vergrößerung: 15.000 fach

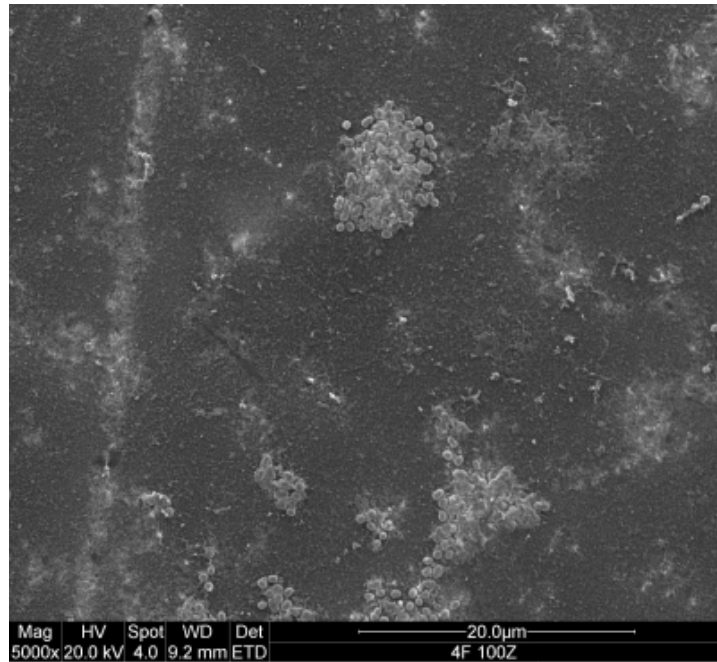


Abb. 50, 24 h-Biofilmbildung auf einer abradierten Beschichtungsoberfläche (100.000 Zyklen), mit vierfachem Fluorsilanzusatz. Die Prüfkörperoberfläche ist von einer Schicht aus adsorbierten Speichelproteinen (Pellicel) überzogen. An der Pelliceloberfläche adhäreren einzelne kokkenförmige Mikroorganismen, z.T. lassen sich auch bakterielle Aggregate erkennen. Vergrößerung: 5.000 fach

5. Diskussion

5.1 Diskussion von Material und Methoden

5.1.1 Herstellung der Prüfkörper

In der vorliegenden Studie wurde das mikromorphologische Erscheinungsbild des intraoralen Biofilms auf unterschiedlich beschichteten und unbeschichteten Zahnschmelzprüfkörpern miteinander verglichen. Als Prüfkörpermaterial stand Rinderzahnschmelz zur Verfügung. Er ist dem humanen Zahnschmelz in Aufbau und Zusammensetzung sehr ähnlich und steht in großer Menge zur Verfügung. Durch die Größe der Rinderzähne ist eine erleichterte Handhabung bei der Präparation von Probekörpern gegeben und die Labialflächen der Rinderfrontzähne lassen sich daher in der erforderlichen Größe von 5x5mm leichter polieren. Aufgrund eines annähernd gleichen Schlachtalters der Rinder kann von einem vergleichbaren Mineralisationsgrad des Schmelzes ausgegangen werden.

Der größere Teil der Prüfkörper wurde nach der Herstellung mit 36%iger Phosphorsäure für 30 sec. konditioniert und durch das INM in Saarbrücken mit den Nanokompositmaterialien beschichtet. Durch Anwendung der Säure-Ätz-Technik, 1955 von Buonocore erstmals beschrieben, entsteht an der Schmelzoberfläche ein mikroretentives Relief (Ätzmuster). Durch diese künstliche Oberflächenvergrößerung wird die Verbundfestigkeit eines aufgetragenen Füllungsmaterials zum Zahnschmelz signifikant erhöht (Galan und Lynch 1993).

In einer vorhergehenden Studie mit hitzopolymerisierten Beschichtungsmaterialien konnte gezeigt werden, dass sich Fluor-Silan-haltige Nanokompositbeschichtungsmaterialien belastungsstabil an geätztem Zahnschmelz verankern lassen (Hannig et al. 2007). Auch in der vorliegenden Studie erwies sich die Schmelzätztechnik (mittels Phosphorsäure) als ein geeignetes Verfahren, um die lichtpolymerisierten Beschichtungen belastungsstabil („abrasionsresistent“) auf den Zahnschmelzprüfkörpern zu befestigen. Infolge der

Zahnbürstenabrasion war weder der partielle noch der totale Verlust der Beschichtungen von den Schmelzprüfkörpern zu verzeichnen.

Die verbleibenden Prüfkörper wurden unbeschichtet im polierten Zustand als Referenzproben verwendet.

5.1.2 Beschichtungen der Prüfkörper

In die intraoralen Expositionsversuche zur In-situ-Biofilmbildung wurden Zahnschmelzproben mit Nanokompositbeschichtungen unterschiedlichen Fluorsilangehaltes einbezogen. Fluorverbindungen (Fluorcarbon, Fluorsilan) gelten als wichtiger Zusatz, um die freie Oberflächenenergie eines Werkstoffes zu reduzieren und einem Material dadurch anti-adhäsive oder „easy-to-clean“-Eigenschaften zu verleihen (Yoshino et al. 1998, Raulio et al. 2008, Rodrigues et al. 2007, Churchley et al. 2008).

Als Referenzproben fanden neben poliertem Zahnschmelz (unbeschichtet) weiterhin Keramik und Teflonprüfkörper Verwendung. Keramik repräsentiert einen typischen Dentalwerkstoff in der restaurativen Zahnheilkunde. Teflon (PTFE = Polytetrafluorethylen) zeichnet sich durch eine geringe freie Oberflächenenergie aus. In verschiedenen In-vivo- und In-situ-Studien konnte gezeigt werden, dass die mikrobielle Akkumulation und Biofilmbildung auf Teflon oder PTFE-beschichteten Werkstoffoberflächen signifikant reduziert sind. (Quirynen et al. 1989, 1990, Maetani et al. 1991).

Ein Teil der beschichteten Prüfkörper wurde vor der intraoralen Exposition einer Zahnbürstenabrasion (unter Zusatz von Zahnpasta) über 5.000 bis zu 100.000 Abrasionszyklen ausgesetzt. Dadurch sollten Alterungs- und Verschleissprozesse simuliert werden, die unter Mundhöhlenbedingungen an einer intraoral beschichteten Zahnoberfläche auftreten. Die Abrasionsexperimente erfolgten unter standardisierten Versuchsbedingungen. Die Wahl der Parameter während der Zahnbürstenabrasion (Verdünnung der Zahnpasta im Verhältnis 2:1 mit Wasser, Auflagegewicht von 200g, Bewegungsprofil und Zyklenanzahl) orientierte sich an den in wissenschaftlichen Schriften publizierten Vorgaben für entsprechende Experimente (z.B. Joiner et al. 2008).

5.1.3 Prüfkörpertrageschienen

Partielle, individuell angefertigte Minioplastschienen erwiesen sich bei zahlreichen In-situ-Studien als geeignetes Verfahren für die exakt reproduzierbare intraorale Exposition der Prüfkörper (Tinanoff et al. 1976, Adams et al. 1979, Hannig 1997, 1999, Balz 1999).

Der sich auf den natürlichen Zähnen eines Probanden bildende Biofilm entspricht dem Biofilm, der sich im gleichen Zeitraum im Mund des selben Probanden auf intraoral befestigten Prüfkörpern ausbildet (Mac Pherson et al. 1991). Die partiellen Minioplastschienen, die im Tiefziehverfahren angefertigt wurden, bieten den Vorteil der schnellen Entnahmemöglichkeit während der Nahrungsaufnahme, um z.B. eine Veränderung des Biofilms durch Störeinflüsse durch die Nahrungsaufnahme zu vermeiden (Leenaars und O'Brien 1989).

Die Befestigung der Prüfkörper auf der Minioplastschiene mittels eines Abformsilikons gewährleistet eine problemlose und sichere Montage während des gesamten Versuchszeitraumes. Trotzdem lassen sich die Prüfkörper nach dem Versuch wieder sicher und zerstörungsfrei aus dem Befestigungsmaterial entfernen. Um eine mögliche Beeinflussung der Biofilmbildung durch freigesetzte Bestandteile des Abformsilikons zu verhindern, lagerten die Minioplastschienen vor Versuchsbeginn für 24h in aqua dest..

5.1.4 Versuchsbedingungen

Um vergleichbare und reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, liefen die Versuche nach einem exakt definierten Muster ab. Die Prüfkörper (3 Stück) wurden immer im Bereich des 2. Prämolaren bis 1. Molaren auf Höhe der bukkalen Flächen an den Trageschienen positioniert. Dieses Vorgehen sollte sicherstellen, dass die intraorale Exposition und die in der Mundhöhle wirkenden Scherkräfte der Wangenschleimhaut bei allen Versuchsreihen einen weitgehend gleichen Einfluss auf die Prüfkörper haben. Durch die exakte Positionierung der Prüfkörper können auch topisch bedingte Unterschiede

und Schwankungen der Biofilmbildung ausgeschlossen werden (Sönju et al. 1974, Hannig 1997, 1999).

Jede Versuchsreihe begann zwischen 8.00 und 9.00 Uhr morgens, damit die zirkadiane Rhythmik der Speichelsekretion zu keiner Verfälschung des Ergebnisses führen konnte (Morge et al. 1989).

Während der Expositionsversuche durften die Probanden mit intraoral eingegliederten Prüfkörpertragevorrichtungen nur Wasser zu sich nehmen, da adsorbierbare Bestandteile aus der Nahrung zu Veränderungen der Pellikelmorphologie führen (Nyvad und Fejerskov 1984, Müller 1987, Müller et al. 1988). Das Erscheinungsbild der Pellikel wird ebenso durch saure Nahrungsbestandteile verändert (Hannig und Balz 1999).

Daher wurden die Prüfkörpertragevorrichtungen zu den Hauptmahlzeiten entnommen und in einem Hygrophor gelagert.

5.1.5 Rasterelektronenmikroskopische Analyse der Biofilmbildung

Die In-situ-Biofilmbildung auf den beschichteten Prüfkörpern und unbeschichteten Referenzmaterialien wurde rasterelektronenmikroskopisch bei Vergrößerungen bis zu 20.000 fach analysiert. Die Rasterelektronenmikroskopie stellt eine bewährte und häufig eingesetzte Methode zur Untersuchung der bakteriellen Adhärenz und Biofilmbildung dar (Yoshino et al. 1998, Raulio et al. 2008, Gyo et al. 2008, Churchley et al. 2007, Adams et al. 1979, Berthold 1979).

Die rasterlektronenmikroskopische Biofilmuntersuchung bietet zum einen die Möglichkeit, das mikromorphologische Erscheinungsbild des Biofilms zu analysieren und zwischen adsorbierten Proteinschichten (Pellikel), einzelnen adhärennten Mikroorganismen oder bakteriellen, dreidimensional organisierten Biofilmen zu differenzieren. Zum anderen kann der Biofilm mit Hilfe der Rasterlektronenmikroskopie auch in Hinblick auf seine „Anhaftung“ an der Substratoberfläche analysiert werden. So war es durch die REM-Untersuchung in der vorliegenden Studie möglich, „Abschilferungs- und Abschälphänomene“ des Biofilms aufzudecken.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Ein anti-adhäsiver Effekt der Nanokompositbeschichtungen war nur bedingt nachweisbar, auf allen Proben lagerten sich Biofilme an.
- Auf den beschichteten Oberflächen zeigt sich eine reduzierte Biofilmbildung, z.T. war der Biofilm unter Mundhöhlenbedingungen von der Beschichtungsoberfläche abgeschert („easy-to-clean“-Effekt).
- Der Effekt der reduzierten Biofilmbildung auf den beschichteten Proben war nach einer intraoralen Expositionsdauer von 7 Tagen nicht mehr nachzuweisen.

5.2.1 Beeinflussung der Biofilmbildung

Bei einem in der Mundhöhle exponierten Material spielen generell die Benetzbarkeit und die freie Oberflächenenergie sowie die Rauheit der Oberfläche eine entscheidende Rolle bei der Biopolymeradsorption und der nachfolgenden Biofilmbildung (Busscher et al. 1984, De Jong et al. 1984, Krämer et al. 1989, Reich 1989, Teughels et al. 2006).

Speichelproteine benetzen alle in der Mundhöhle exponierten Festkörperoberflächen und adsorbieren auch an den Oberflächen von Festkörpern mit niedriger freier Oberflächenenergie und somit hydrophoben Eigenschaften (Hannig 1997a, 2007, Hannig und Hannig 2009). Selbst auf dem sehr hydrophoben Polytetrafluoräthylen (Teflon) konnten nach intraoraler Exposition Pellikelschichten geringer Stärke nachgewiesen werden (Hannig und Hannig 2009). Auch die hier untersuchten Beschichtungen auf Nanokompositbasis mit einer niedrigen freien Oberflächenenergie von 20-25 mJ/mm² zeigten eine Pellikelbildung.

In zahlreichen In-situ-Studien konnten keine signifikanten Unterschiede in der Plaquequantität auf verschiedenen Materialien nachgewiesen werden (Leonhardt et al. 1995, Shahal et al. 1998, Hannig 1999). Allerdings wurden insbesondere Keramiken und Teflonmaterialien eine geringe bakterielle Besiedlung und ein hoher Selbstreinigungseffekt bescheinigt (Tullberg 1986,

Krämer et al. 1989, Adamczyk und Spiechowicz 1990, Kawai und Urano 2001, Ausschill et al. 2002). Das Studiendesign unterschied sich jedoch teilweise sehr deutlich durch abweichende Beobachtungszeiträume der Plaquebildung und Unterschiede in den jeweiligen Nachweisverfahren der Bakterien, so dass sich die abweichenden Ergebnisse durch unterschiedliche Methoden erklären lassen.

Auf den bukkal im Oberkieferseitenzahnbereich positionierten Referenzoberflächen aus unbeschichtetem Zahnschmelz und Keramik bildeten sich innerhalb von 24h bzw. 48h mehrlagige bakterielle Biofilme aus. Diese Ergebnisse befinden sich in Übereinstimmung mit publizierten Daten zur Biofilmbildung auf Zahnhartsubstanz und Dentalmaterialien (Hannig 1999, Hannig et al. 2007). In den Biofilmen dominierten – ebenfalls in guter Übereinstimmung mit der Literatur – Kokken-förmige Mikroorganismen (Hannig 1999, Hannig et al. 2007).

Dass ein großes Interesse an Oberflächen mit anti-adhäsiven Eigenschaften besteht, die so die Biofilmbildung beeinflussen können, zeigen zahlreiche Untersuchungen auf diesem Gebiet (Van Dijken et al 1997, Ebi et al. 2001, Kawai und Takaoka 2001). Auch Teflon wurde bereits aufgrund seines hohen Selbstreinigungseffektes auf seine anti-adhäsiven Eigenschaften hin untersucht (Quirynen 1989,1990, Maetani et al. 1991). In dieser Arbeit wurde die Ausbildung eines Biofilms auf Schmelzproben mit Beschichtungen unterschiedlichen Fluorsilangehalts untersucht. Es sollte überprüft werden, ob die Materialien anti-adhäsive Eigenschaften besitzen.

5.2.2 Wertung anti-adhäsiver Eigenschaften des Materials

Nach Auswertung der 24- und 48-stündigen sowie sieben Tage dauernden In-vivo Trageversuche zeigt sich, dass die untersuchten Beschichtungsmaterialien nur begrenzt anti-adhäsive Eigenschaften aufweisen.

Im Rahmen der rasterelektronenmikroskopischen Analysen konnte das partielle Ablösen („Abschilfern“) des In-situ gebildeten Biofilms von der Oberfläche der Beschichtungen festgestellt werden. Diese rasterelektronenmikroskopischen Befunde lassen den Schluss zu, dass die Beschichtungsoberflä-

chen unter Mundhöhlenbedingungen einen „easy-to-clean“ Effekt ausweisen: d.h., die in der Mundhöhle existenten Scherkräfte infolge der Wangen- und Zungenbewegungen sowie die hydrodynamischen Fließkräfte aufgrund der intraoralen Flüssigkeitsbewegungen führen zum Abscheren/ Ablösen des Biofilms von der beschichteten Zahnschmelzoberfläche.

Dieser „easy-to-clean“ Effekt lässt sich durch die Kombination mehrerer Faktoren erklären. Ein Faktor für die geringe Haftung der Plaque an der Oberfläche ist die niedrige freie Oberflächenenergie des Beschichtungsmaterials, von 20-25 mJ/mm² (Kasemann et al. 1991,1992).

Dadurch sind bei den beschichteten Proben, im Gegensatz zu den Keramik- oder Schmelzprüfkörpern, die Bindungskräfte zwischen den Speichelbiopolymeren und der Beschichtungsoberfläche reduziert. Bindungskräfte zum Beschichtungsmaterial treten jedoch in abgeschwächter Form noch auf, denn ansonsten wäre das Ausmaß der Pellikel- bzw. Plaqueanhaftung durch Desorptionsprozesse wesentlich deutlicher reduziert.

Die Kräfte, die zum teilweisen Abscheren des Biofilms führen, müssen größer sein als die Adhäsionskräfte, die zwischen der Beschichtung und dem Biofilm herrschen (Leenaars und O`Brian 1989). Diese Kräfte treten z. B. durch Bewegungen der Zunge, der Wangen, beim Schluckakt sowie der Mastikation auf. In begrenztem Umfang übernehmen diese Scherkräfte während des Essens, Trinkens und Sprechens die Abschilferungsphänomene des Biofilms und bewirken eine Selbstreinigungsfunktion der Festkörperoberflächen in der Mundhöhle (Busscher und van der Mei 1997).

Des Weiteren könnte auch die sehr glatte Oberfläche der Beschichtungen zur Reduktion der Biofilmbildung beigetragen haben. Ein Zusammenhang zwischen der bakteriellen Adhärenz und der Oberflächenrauheit wurde bereits vor Jahren aufgezeigt. (Quirynen et al. 1990, Quirynen 1994, Quirynen und Bollen 1995, Rimondini 1997). Die Bildung bakterieller Beläge ist auf glatten Oberflächen mit niedrigen freien Oberflächenenergien am geringsten (Teughels et al. 2006).

Beim Absprühen der Beschichtungsoberfläche nach 24-stündiger und 48-stündiger Exposition in der Mundhöhle mit dem Wasserspray aus der Multifunktionsspritze einer dentalen Behandlungseinheit ließen sich die bakteriellen Biofilme vollständig von den Beschichtungsflächen entfernen. Nach

dem Absprayen verblieb nur ein Proteinnetzwerk (Pellicel) auf den Beschichtungsoberflächen. Diese Befunde bestätigen und unterstreichen noch einmal, dass die Beschichtungsoberflächen „easy-to-clean“-Eigenschaften besitzen. Vergleichbare Effekte waren nur auf den Teflonproben, jedoch nicht auf den Referenzprüfkörpern an Keramik oder Schmelz nachweisbar.

Teflonoberflächen zeigten in der vorliegenden Untersuchung somit ebenso wie die Beschichtungsoberflächen „easy-to-clean“-Effekte, die sich durch die geringe freie Oberflächenenergie von Teflon (18-20 mj/mm²) erklären lassen. Dieser „Selbstreinigungseffekt“ bzw. die anti-adhäsiven Eigenschaften von Teflon wurden bereits in früheren In-situ-Studien unter Mundhöhlenbedingungen nachgewiesen. (Quiryneen et al. 1989, 1990, Maetani et al. 1991). Frühere Studien über die Wirksamkeit von Mundduschen zeigten, dass mit diesen keine Entfernung der Plaque, allerdings von Prüfkörpern ohne anti-adhäsive Beschichtung, möglich ist (Nolte 1973, Lange et al. 1974, Hugoson 1978, Plagmann 1998).

Nach der siebentägigen Biofilmbildung waren allerdings „easy-to-clean“-Effekte der Nanokompositbeschichtung nicht mehr nachweisbar. Dieser Befund lässt sich erklären durch Maturationsprozesse im Biofilm, insbesondere durch die Produktion extrazellulärer Polysaccharide, woraus ein stärker „vernetzter“ und „besser haftender“ Biofilm resultiert, so dass unter dem Einfluss physiologischer wirksamer Scherkräfte keine „Abschilfern“ des Biofilms mehr resultiert.

5.3 Einfluss des Fluorsilangehaltes der Beschichtung auf die bakterielle Adhärenz

Mit der Zielsetzung, die freie Oberflächenenergie der Beschichtungsmaterialien zu reduzieren, wurden diese mit Perfluoroalkyl-Verbindungen (Fluorsilane) angereichert.

Es wurden Versuchsreihen mit beschichteten Prüfkörperoberflächen, ohne, mit einfachem, mit zweifachem sowie mit Fluorsilangehalt in der Beschichtung durchgeführt. Fluorsilanbeschichtungen senken die Oberflächenbenetzbarkeit und erhöhen außerdem die Bruchfestigkeit von keramischen Werkstoffen (Rosenstiel et al. 1993). Daher bestand die Erwartung, dass eine

Erhöhung des Fluorsilangehaltes zu einer Verringerung der bakteriellen Adhärenz führt.

Bei Auswertung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigte sich, dass es nur auf der Beschichtung ohne Fluorsilanzusatz zur Ausbildung eines dichteren Biofilms mit vermehrter bakterieller Aggregation kam, während bei den Beschichtungen mit Fluorsilan die Stärke des Biofilms deutlich vermindert war. Teilweise ließen sich nur einzelne Biofilm-„Inseln“ erkennen. Der Biofilm war dünner als bei den Proben ohne Fluorsilangehalt und wies nur wenige bakterielle Aggregationen auf. Es zeigte sich eine teilweise Ablösung von der Oberfläche, die in der REM-Aufnahme als „Umschlagen“ auf den noch anhaftenden Teil des Biofilms imponierte. In der Tendenz nahm der „easy-to-clean“-Effekt mit steigendem Fluorsilangehalt der Beschichtungen zu. Das partielle „Abschilfern“ des bakteriellen Biofilms von der Prüfkörperoberfläche unter Mundhöhlenbedingungen war jedoch auch auf den Beschichtungen ohne Fluorsilanzusatz nachzuweisen.

Ein Teil der beschichteten Prüfkörper wurde Zahnbürstenabrasionszyklen unterzogen. Dies erfolgt in Reihen mit 5.000, 10.000, 20.000 und 100.000 Abrasionszyklen. Nur nach 100.000 Zyklen waren vermehrte bakterielle Adhärenz und einzelne Mikrokolonien bei der rasterelektronenmikroskopischen Analyse auszumachen, die bei geringer Abrasionszyklenzahl auf den Beschichtungen nicht auftraten.

Diese Resultate zeigen, dass sich das Beschichtungsmaterial durch eine exzellente Verschleissfestigkeit und Beständigkeit im Hinblick auf die „easy-to-clean“-Oberflächeneigenschaften auszeichnet. Übertragen auf die tägliche Mundhygiene entsprechen 100.000 Abrasionszyklen einer Zeitspanne von 3-4 Jahren (Joiner et al. 2006).

5.4 Schlussfolgerungen

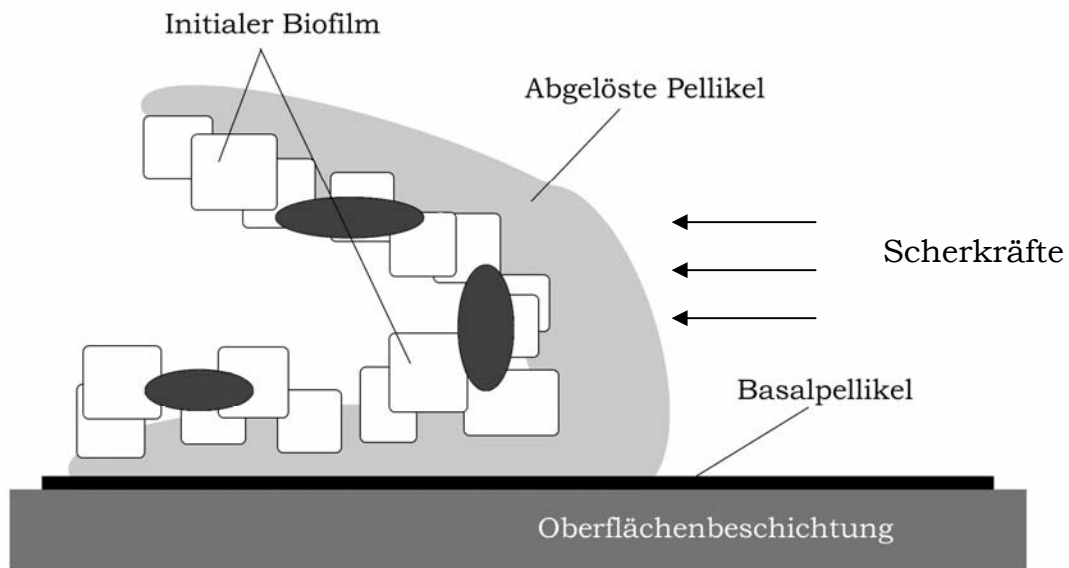


Abb. 51, Graphische Darstellung des „easy-to-clean“- Effektes

Das Adhäsionsverhalten zwischen Biofilm und dem Beschichtungsmaterial war bei einigen Präparaten so gering, dass die Prüfkörper auf den raster-elektronenmikroskopischen Aufnahmen zum Teil biofilmfreie Areale sowie umgeklappte Pellikel- bzw. Biofilmstrukturen aufwiesen. Diese Phänomene traten jedoch nicht bei allen Prüfkörpern und nicht über die gesamte Fläche auf, so dass der Beschichtung nur bedingt ein anti-adhäsiver Effekt zugesprochen werden kann. Die vollständige Entfernung des bakteriellen Biofilmes durch die zahnärztliche Multifunktionsspritze legt nahe, dass die untersuchten Beschichtungsmaterialien zumindest „easy-to-clean“ Eigenschaften aufwiesen, wenn auch nicht von anti-adhäsiven Eigenschaften gesprochen werden kann. Dies ist jedoch als positiv zu werten, da die Zahnoberfläche als Ort der initialen Bakterienbesiedlung in der Mundhöhle erhalten bleibt und so das vorherrschende mikrobielle Gleichgewicht nicht zerstört wird. Die untersuchten Nanokompositbeschichtungen besitzen somit das Potential zum gezielten Biofilmmangement in der Mundhöhle. Einschränkend muss jedoch angemerkt werden, dass die „easy-to-clean“-Effekte zwar die Bildung des 24h- oder 48h- Biofilms effektiv reduzieren können, aber nicht ausreichen, um die Bildung mehrtägiger Biofilme zu verhindern. Die Versuchsreihe zur Abrasionsfestigkeit der Nanokompositbeschichtung zeigte, dass unter

den in dieser Studie gewählten Bedingungen, d.h. bei bis zu 100.000 Abrasionszyklen, kein Verschleiss der Beschichtungen und nur eine geringe Reduktion der „easy-to-clean“-Eigenschaften festzustellen war.

6. Literaturverzeichnis

Aas J., Paster B., Stokes L., Olsen I., Dewhirst F.

Defining the normal bacterial flora of the oral cavity.

J Clin Microbiol 2005; 43: 5721-5732

Adamczyk E., Spiechowicz E. Plaque accumulation on crowns made of various materials.

Int J Prosthodont 1990; 3: 285-291

Adams O., Stipho H.D.K., Murphy W.M. Variations in the initial formation of pellicle and plaque on enamel in vivo.

J Dent Res 1979; 7: 169-173

Aguirre A., Levine M., Cohen R., Tabak L.

Immunochemical quantitation of alpha-amylase and secretory IgA in parotid saliva from people of various ages.

Arch Oral Biol. 1987; 32: 297-301

Anwar H., Strap J., Costerton J.

Establishment of aging biofilms: possible mechanism of bacterial resistance to antimicrobial therapy.

Antimicrob Agents Chemother 1992; 36: 1347-51

Attin R., Thon C., Schlagenhaut U., Werner C., Wiegand A., Hannig C., Attin T.

Recolonization of mutans streptococci on teeth with orthodontic appliances after antimicrobial therapy.

Eur J Orthod 2005; 27: 489-93

Auschill T.M., Arweiler N.B., Brecx M., Reich M., Sculean A., Netuschil L.

The effect of dental restorative materials on dental biofilm

Eur J Oral Sci 2002; 110: 48-53

Balz M.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur säureprotektiven Wirkung der in-vivo-Pellikel.

Med Diss., Kiel, 1999

Bennick A., Cannon M., Madapallimattam G.

The nature of the hydroxyl apatite-binding site in salivary acidic proline-rich proteins.

Biochem J 1979; 183: 115-126

Bennick A.

Structural and genetic aspects of proline-rich proteins.

J Dent Res 1987; 66: 457-461

Berthold P. Formation of salivary coating and dental plaque on two different supporting materials.

J Periodontol 1979; 50: 397-405

Bowden G., Hamilton I.,

Survival of oral bacteria,

Crit Rev Oral Biol Med 1998; 9: 54-85

Brex M., Rönström A., Theilade J., Attström R.

Early formation of dental plaque on plastic films.

J Periodont Res 1981; 16: 213-227

Buonocore M.

A simple method of increasing the adhesion of acryl filling materials to enamel surfaces.

J Dent Res 1955; 34: 849-853

Busscher H., De Jong H., Van Pelt A., Arends J.

Dispersive and polar surface free energies from contact angle measurements. In: Frank R.M., Leach S.A: Surface and colloid phenomena in the oral cavity: methodological aspects.

1. Aufl. IRL Press 1982; London, 91-103

Busscher H., De Jong H., Van Pelt A., Arends J.
The surface free energy of human dental enamel.
Biomater Med Dev Art Org 1984; 12: 37-49

Busscher H., Sjollema J., Van der Mei H.
Relative importance of surface free energy as a measure of hydrophobicity in
bacterial adhesion to solid surfaces.
Microbiol cell surface hydrophobicity 1990, eds. Doyle RJ., Rosenberg M.;
Washington OC, American Society for Microbiology: 335-359

Busscher H., Van der Mei H.
Physico-chemical interactions in initial microbial adhesion and relevance for
biofilm formation.
Adv Dent Res 1997; 11: 24-32

Caldwell D., Atuku E., Wilkie D., Wivcharuk K., Karthikeyan S., Korber D.,
Schmid D., Wolfaardt G.
Germ theory vs. community theory in understanding and controlling the
proliferation of biofilms.
Adv Dent Res 1997; 11: 4-13

Churchley D., Rees GD, Barbu E., Nevel TG, Tsibouklis J.
Fluoropolymers as low-surface-energy tooth coatings for oral care
Int J Pharm 2008; 352: 44-9

Costerton J., Lewandowski Z., Caldwell D., Korber D., Lappin-Scott H.
Microbial biofilms
Annu Rev Microbiol 1995; 49: 711-745

Costerton J., Stewart P., Greenberg E.
Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections
Science 1999; 284:1318-22

Davies D., Chakrabarty A., Geesey G.

Exopolysaccharide production in biofilms substratum activation of alginate gene expression by pseudomonas aeruginosa

Appl Environ Microbiol, 1993; 59: 1181-6.

De Jong H., Van Pelt A., Arends J.

1. Contact angle measurements on human enamel- an in vitro study of influence of pellicle and storage period.

J Dent Res 1982; 61: 11-13

De Jong H., De Boer P., Busscher H., Van Pelt A., Arends J.

Surface free energy changes of human enamel during pellicle formation.

Caries Res 1984; 18: 408-415

De Jong H., De Boer P., Busscher H., Van Pelt A., Arends J.

Surface free energy of human enamel after pellicle formation and fluoride application.

Appl Environ Microbiol 1984 November; 48: 980-983

De Jong H., Van Pelt A., Busscher H., Arends J.

The effect of topical fluoride applications in the surface free energy of human enamel. An in vitro study.

J Dent Res 1984; 63: 635-641

De Kievit T., Iglewski B.,

Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships.

Infect Immun 2001; 68: 4839-4849

Ebi N., Imazato S., Noiri Y., Ebisu S.

Inhibitory effects of resin composite containing bactericide-immobilized filler on plaque accumulation.

Dent Mater 2001; 17: 485-491

Ellingsen J., Röllä G.

Dental plaque inhibition by a combination of triclosan and polydimethylsiloxane (silicone oil)

Scand J Dent Res 1994; 102: 26-29

Embery G., Heaney T., Stanbury J.

Studies on the organic polyanionic constituents of human acquired dental pellicle.

Arch Oral Biol 1986; 31: 623-625

Ericson R., Pruitt K, Arwin H., Lundström I.

Ellipsometric studies of film formation on tooth enamel and hydrophilic silicon surfaces.

Acta Odontol Scand 1982; 40: 197-201

Europäische Patentschrift: Beschichtungszusammensetzungen auf der Basis von fluorhaltigen anorganischen Polykondensaten, deren Herstellung und deren Verwendung.

Europäisches Patentamt 1995; 0 587 667 BI

Anmelder: Institut für Neue Materialien gemeinnützige GmbH, Saarbrücken

Flemming H., Wingender J.

Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs)-Part I: Structural and ecological aspects.

Water Sci Technol 2001; 43: 1-8

Fine D., Wilton J., Caravana C.

In vitro sorption of albumin, immunoglobulin G and lysozyme to enamel and cementum from human teeth.

Infect Immun 1984; 44: 332-338

Galan D., Lynch E.

Principles of enamel etching.

J Ir Dent Assoc 1993; 39; 104-111

Gibbons R., Hay D.

Adsorbed salivary acidic proline-rich proteins contribute to the adhesion of streptococcus mutans JBP to apatitic surfaces.

J Dent Res 1989; 68: 1303-1307

Glantz P.-O.

Adhesion to the surfaces of teeth. In: Leach, S. A: Dental plaque and surface interactions in the oral cavity.

1. Aufl., IRL Press Ltd London 1980, 49-64

Glantz P.-O., Larsson K.

On surface charge and intraoral adhesion. In: Röllä G., Sönju T., Embery G.: Tooth surfaces interactions and preventive dentistry.

1. Aufl., IRL Press Ltd., London 1981, 181-191

Gorbunoff M., Timasheff S.

The interaction of proteins with hydroxyapatite.

Analyt Biochem 1984; 136; 440-445

Guan Y., Lath D., de Graaf T., Lilley T., Brook A.

Moderation of oral bacterial adhesion on saliva-coated hydroxyapatite by polyaspartate.

J Appl Microbiol 2003; 94: 456-461

Hahn R., Netuschil L., Löst C.

Initiale Plaquebesiedelung keramischer Restaurationsmaterialien.

Dtsch Zahnärztl Z 1992; 47: 330-334

Hannig M., Bößmann K.

Die Abrasivität des Pellikels unter klinischen Gesichtspunkten.

Dtsch Zahnärztl Z 1987; 42: 739-742

Hannig M, Bößmann K.

Die Abriebfestigkeit des exogenen Zahnoberhäutchens bei der Zahnreinigung mit Zahnbürste und Zahnpaste.

Oralprophylaxe 1988; 10: 3-10

Hannig M., Bößmann K.

Pellicula dentis. - Ultrastrukturelle Vielfalt als Ausdruck komplexer Bildung und Reifung. Teil I und II.

Quintessenz 1989; 40: 1319-1327 bzw. 1485-1489

Hannig M.

Transmission electron microscopy study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials.

Eur J Oral Sci 1997; 105: 422-433

Hannig M.

Transmission electron microscopy of early plaque formation on dental materials in vivo.

Eur J Oral Sci 1999; 107: 55-64

Hannig M.

Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period.

Clin Oral Invest 1999; 3: 88-95

Hannig M, Balz M.

Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion.

Caries Res 1999; 33: 372-379

Hannig M., Hess N., Hoth-Hannig W., De Vrese M.

Influence of salivary pellicle formation time on enamel demineralization--an in situ pilot study

Clin Oral Investig 2003; 7: 158-61

Hannig M., Joiner A.

The structure, function and properties of the acquired pellicle

Duckworth RM: The Teeth and Their Environment.

Monogr Oral Sci 2006; 19: 29-64

Hannig M., Kriener L. Hoth-Hannig W., Becker-Willinger H., Schmidt H.
Influence of nano-composite surface coating on biofilm formation in situ.
J Nanosci Nanotech 2007; 7: 4642 – 4648

Hannig C., Becker K., Häusler N., Hoth-Hannig W., Attin T., Hannig M.
Protective effect of the in situ pellicle on dentin erosion – an ex vivo pilot
study.
Arch Oral Biol 2007; 52: 444-449

Hannig C., Hannig M.
The oral cavity – a key system to understand substratum-dependent bioad-
hesion on solid surfaces in man
Clin Oral Invest 2009; 13: 123-129

Horbett T.
Protein adsorption on biomaterials.
Adv Chem Ser 1982; 199: 233-244

Hugoson A.
A Effect of the Water Pik® device on plaque accumulation and development
of gingivitis.
J Clin Periodontol 1978; 5: 95-104

Hulbert J., Gibbons R.
Enhancement of S. mutans attachment to pellicle by adsorbed proline-rich
protein.
J Dent Res 1990; 69: 286, Abstr. No 1435

Joiner A., Schwarz A., Philpotts C., Cox T., Huber K., Hannig M.
The protective nature of pellicle towards toothpaste abrasion on enamel and
dentine.
J Dent 2008; 36: 360-8

Juriaanse A., Booij M., Arends J., Ten Bosch J.
The adsorption in vitro of purified salivary proteins on bovine dental enamel.
Arch Oral Biol 1981; 26: 91-96

Kasemann R., Brück S., Schmidt H.

Fluorine modification of ormocer-coating materials. Eurogel '91 - European materials research society monographs

Elsevier Science publishers B.v. 1992; Vol. 5: 353-359

Kasemann R., Brück S., Schmidt H.

Schmutzabweisende transparente Beschichtungen auf Basis fluormodifizierter anorganisch-organischer Nanokomposite.

66. Glastechnische Tagung der Deutschen Glastechnischen Gesellschaft e.V., 1992 Kurzreferat: 29-32

Kawai K., Takaoka T.

Inhibition of bacterial and glucan adherence to various light-cured fluoride-releasing restorative materials.

J Dent 2001; 29: 119-122

Kawai K., Urano M.

Adherence of plaque components to different restorative materials.

Oper Dent 2001; 26: 396-400

Krämer A., Weber H., Geis-Gerstorfer J.

Plaquesammlung an Implantat- und prothetischen Werkstoffen - eine klinische Studie.

Z Zahnärztl Implantol 1989; 5: 283-286

Kousvelari E., Baratz R., Burke B., Oppenheim F.

Immunochemical identification and determination of proline-rich proteins in salivary secretions, enamel pellicle, and glandular tissue specimens.

J Dent Res 1980; 59:1430-8

Kousvelari E., Ciardi J., Bowers M.

Altered bacterial aggregation and adherence associated with changes in rat parotid-gland salivary proteins induced in vivo by β -adrenergic stimulation.

Arch Oral Biol 1988; 53: 341-346

Lange D., Rager H., Plagmann H.-C., Baumann M.

Untersuchungen über die Wirksamkeit von Wasserstrahlgeräten im Bereich der Gingiva.

Dtsch Zahnärztl Z 1976; 31: 399-404

Lassen B., Holmberg K., Brink C., Carlen A., Olsson J.

Binding of salivary proteins and oral bacteria to hydrophobic and hydrophilic surfaces in vivo and in vitro.

Colloid Polymer Sci 1994; 272: 1143-1150

Lendenmann U., Grogan J., Oppenheim F.

Saliva and dental pellicle--a review

Adv Dent Res 2000; 14: 22-8

Lenander-Lumikari M., Loimaranta V.,

Saliva and Dental Caries

Adv Dent Res 2000; 14: 40-47

Leonhardt A., Olsson J., Dahlen G.

Bacterial colonization on titanium, hydroxyapatite and amalgam surfaces in vivo.

J Dent Res 1995; 74: 1607-1612

Liljemark W., Fenner L., Bloomquist C.

In vivo colonization of salivary pellicle by haemophilus, actinomyces and streptococcus species.

Caries Res 1986; 20: 481-497

Mac Pherson L. Mac Farlane L., Weetman, Stephen K.

Comparison of the plaque microflora from natural and appliance born enamel surface.

Caries Res 1991; 25: 58-64

Maetani T., Miyoshi R., Nahara Y., Kawazoe Y., Hamada T.

Plaque accumulation on Tefloncoated metal.

J Prosth Dent 1991; 3: 353-357

Marsh P., Bradshaw D.
Dental plaque as a biofilm.
J Ind Microbiol 1995; 15: 169-175

Marsh P.
Dental plaque as a microbial biofilm.
Caries Res 2004; 38: 204-211

Marquis R.
Oxygen metabolism, oxidative stress and acid-base physiology of dental plaque biofilms
J Ind Microbiol 1995; 15: 198-207

Mayhall C.
Nonmineralized coverings of the enamel surface. In Menaker L.
The biologic basis of dental caries 1980; 1: 148-166, Hagerstown, Harper and Row, Publishers Inc.

Moreno E., Varughese K., Hay D.
Effect of human salivary proteins on the precipitation kinetics of calcium phosphate.
Calcif Tiss Int 1979; 28: 7-16

Moreno E., Kresak M., Hay D.
Adsorption thermodynamics of acidic proline-rich salivary proteins onto calcium apatites.
J Biol Chem 1982; 257: 2981- 2989

Morge S., Adamczak E., Linden L.
Variation in human salivary pellicle formation on biomaterials during the day.
Arch Oral Biol 1989; 34: 669-674

Müller R.

Untersuchungen zur initialen Plaquebildung auf natürlichen und künstlichen Oberflächen unter veränderten oralen Milieubelastungen.

Med Habil (Promotion B) 1987, Erfurt

Müller R., Künzel W., Szabo J.

Scanning and transmission electron microscopy studies of short-term changes in acquired pellicle after two different dietary regimes.

Caries Res 1988; 22: 98 Abstr. No. 27

Netuschil L., Brex M., Vohrer KG., Riethe P.

Vital fluorescence to assess in vitro and in vivo the antibacterial effects of amalgams.

Acta Stomatol Belg, 1996, 93: 129-34

Nikiforuk G.

Understanding dental caries, Etiology and mechanisms, Basic and clinical aspects, Vol 1

Basel, Karger Verlag, 1985, 1. Auflage: 253- 256

Nolte W. Oral ecology.

Nolte W., ed. Oral microbiology. 2nd edn.

St. Louis: Mosby, 1973: 21

Norde W.

Adsorption of biopolymers and its relevance for particle adhesion: a physico-chemical approach. In: Ten Cate J, Leach S, Arends J (eds): Bacterial adhesion and preventive dentistry.

Oxford IRL Press 1984; 1-17

Nyvad B., Fejerskov O.

Experimentally induced changes in ultrastructure of pellicle and microbial colonization on enamel in vivo. In: Ten cate, J. M., Leach, S. A, Arends, J.: Bacterial adhesion and preventive dentistry.

IRL Press, Oxford, 1984: 143-151, 1. Auflage

Nyvad B., Fejerskov O.

Transmission electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces in vivo.

Scand J Dent Res 1987; 85: 297-307

Nyvad B., Kilian M.

Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo.

Scand J Dent Res 1987; 95: 369-380

Nyvad B.

Microbial colonization of human tooth surfaces.

APMIS 1993; 101 (Suppl. 32): 7-45

Offenlegungsschrift DE 195 44 763 A I. Verwendung einer fluorhaltigen, anorganische Polykondensate enthaltenden Beschichtungszusammensetzung. Deutsches Patentamt 1995; Anmelder: Institut für Neue Materialien gemeinnützige GmbH, Saarbrücken

Olsson J., Carlen A., Holmberg K.

Inhibition of Streptococcus mutans adherence to hydroxyapatite with combinations of alkyl phosphates and non-ionic surfactans.

Caries Res 1991; 25: 51-57

Olsson J., van der Heijde Y., Holmberg K.

Plaque formation in vivo and bacterial attachment in vitro on permanently hydrophobic and hydrophilic surfaces.

Caries Res 1992; 26: 428-433

Olsson J., Carlen A., Burns NL., Holmberg K.,

Modified pellicle formation and reduced in vitro bacterial adherence after surface treatment with different siloxane polymers.

Colloid and Surfaces B: Biointerfaces 1996; 3-4: 161-169

Plagmann H.

Lehrbuch der Parodontologie.

München; Wien: Carl Hanser Verlag 1998; 39-41, 85-99

Pruitt K.

Macromolecular components of oral fluids at tooth surfaces.

Swed Dent J 1977; 1: 225-240

Quirynen M., Marechal M., Busscher H., Weerkamp A., Arends J., Darius P.,
van Steenberghe D.

The influence of surface free energy on planimetric plaque growth in man.

J Dent Res 1989; 68: 796-799

Quirynen M., Marechal M., Busscher H.J., Weerkamp A.H. Darius P.L.,
Steenberghe D.

The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque
formation.

J Clin Periodontol 1990; 17: 138-144

Quirynen M.

The clinical meaning of the surface roughness and the surface free energy of
intraoral hard substrata on the microbiology of the supra- and subgingival
plaque: results of in-vitro and in vivo experiments.

J Dent 1994; 22: 13-16

Quirynen M., Bollen C.

The influence of surface roughness and surface free energy on supra and
subgingival plaque in man. A review of the literature.

J Clin Periodontol 1995; 22: 1-14

Raulio M., Järn M., Ahola J., Peltonen J., Rosenholm J., Tervakangas S., Ko-
lehmainen J., Ruokolainen T., Narko P., Salkinoja-Salonen M.

Microbe repelling coated stainless steel analysed by field emission scanning
electron microscopy and physicochemical methods.

J Ind Microbiol Biotechnol 2008; 35: 751-60

Reich E.

In vivo-Messungen des Kontaktwinkels auf Füllungsmaterialien vor und nach Oberflächenbearbeitung.

Dtsch Zahnärztl Z 1989; 44: 539-541

Rimondini L., Fare S., Brambilla E., Felloni A., Consonni C., Brossa F., Carrassi A.,

The effect of surface roughness on early in vivo plaque colonization on titanium.

J Periodontol 1997; 68: 556-562

Robinson C., Strafford S., Rees G., Brookes S., Kirkham J., Shore R., Watson P., Wood S.

Plaque biofilms: the effect of chemical environment on natural human plaque biofilm architecture

Arch Oral Biol 2006; 51: 1006-1014

Rodrigues L., Banat I., Teixeira J., Oliveira R.

Strategies for the prevention of microbial biofilm formation on silicone rubber voice prostheses

J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2007; 81: 358-70

Rosenstiel S., Denry I., Zhu W., Gupta P., Van der Sluys R.

Fluoroalkylethyl silane coating as a moisture barrier for dental ceramics.

J Biomed Mater Res 1993; 27: 415-7

Rölla G., Ellingsen J., Gaare D.

Polydimethylsiloxane as a tooth surface-bound carrier of triclosan: A new concept in chemical plaque inhibition.

Adv Dent Res 1994; 8: 272-277

Rykke M., Sönju T., Rölla G.

Interindividual and longitudinal studies of amino acid composition of pellicle collected in vivo.

Scand J Dent Res 1990; 98: 129-134

Rytömaa I., Meurman J.H., Koskinen J., Laasko R., Gharazi L., Turunek R.
In vitro erosion of bovine enamel caused by acidic drinks and other food-stuffs.

Scand J Dent Res 1988; 96: 324-333

Shahal Y., Steinberg D., Hirschfeld Z., Bronshteyn M., Kopolovic K.,
In vitro bacterial adherence onto pellicle-coated aesthetic restorative materials.

J Oral Rehabil 1998; 25: 52-58

Siegrist B., Brex M., Gusberti F., Joss A, Lang N.

In vivo early human dental plaque formation on different supporting substances.

Clin Oral Impl Res 1991; 2: 38-46

Sipahi C., Anil N., Bayramli E.

The effect of acquired salivary pellicle on the surface free energy and wettability of different denture base materials.

J Dent 2001; 29: 197-204

Skjörland K., Rykke M., Sönju T.

Rate of pellicle formation in vivo.

Acta Odontol Scand 1995; 53: 358-362

Slomiany B., Murty V., Zdebska E., Siomiany A., Gwodzdziński K., Mandel I.
Tooth surface-pellicle lipids and their role in the protection of dental enamel against lactic-acid diffusion in man.

Arch Oral Biol 1986; 31: 187-191

Slomiany B., Murty V., Mandel I., Sengputa S., Siomiany A.

Effect of lipids on the lactic acid retardation capacity of tooth enamel and cementum pellicles formed in vitro from saliva of caries-resistant and caries-susceptible human adults.

Arch Oral Biol 1990; 35: 175-180

Sönju T., Christersson T., Kornstad L., Rölla G.

Electron microscopy, carbohydrate analysis and biological activities of the proteins adsorbed in two hours on tooth surfaces in vivo.

Caries Res 1974; 8: 113-122

Socransky S., Manganiello A., Propas D., Oram V., Van Houte I.

Bacteriological studies of developing supragingival dental plaque.

J Periodontal Res 1977; 12: 90-106

Theilade E., Theilade J., Mikkelsen L.

Microbial studies on early dento-gingival plaque on teeth and mylar strips in humans.

J Periodontol Res 1982; 17: 12-25

Tullberg A.

An experimental study of the adhesion of bacterial layers to some restorative dental materials.

Scand J Dental Res 1986; 94: 164-173

Vacca Smith A., Bowen W.

In situ studies of pellicle formation on hydroxyapatite discs.

Arch Oral Biol. 2000; 45: 277-91

Van Dijken J., Kalfas S., Litra V., Oliveby A.

Fluoride and mutans streptococci levels in plaque on aged restorations of resin-modified glass ionomer cement, compomer and resin composite.

Caries Res 1997; 31: 379-383

Van Loosdrecht M., Zehnder A.

Energetics of bacterial adhesion.

Experientia 1990; 46: 817-822

Van Pelt A., De Jong H., Busscher H., Arends J.

Dispersion and polar surface free energies of human enamel.

J Biomed Mat Res 1983; 17: 637-641

Vassilakos N., Arnebrant T., Glantz P.-O.

Adsorption of whole saliva onto hydrophilic and hydrophobic solid surfaces: influence of concentration, ionic strength and pH.

Scand J Dent Res 1992; 100: 346-353

Vitkov L., Hannig M., Nekrashevych Y., Krautgartner W.

Supramolecular pellicle precursors

Eur J Oral Sci 2004; 112: 320-5

Watnick P., Kolter R.

Biofilm, city of microbes

J Bacteriol 2000; 182: 2675-9

Wilson M.

Bacterial biofilms and human disease

Sci Prog 2001; 84: 235-54

Wimpenny J., Manz W., Szewzyk U.

Heterogeneity in biofilms.

FEMS Microbiol Rev 2000; 24: 661-71.

Yao Y., Lamkin M., Oppenheim F.

Pellicle precursor protein crosslinking characterization of an adduct between acidic proline-rich protein (PRP-1) and statherin generated by transglutaminase.

J Dent Res 2000 Apr; 79: 930-8

Yao Y., Berg E., Costello C., Troxler R., Oppenheim F.

Identification of protein components in human acquired enamel pellicle and whole saliva using novel proteomics approaches

J Biol Chem 2003; 278: 5300-8.

Yoshino N., Teranaka T.

Synthesis of silane coupling agents containing fluorocarbon chain and applications to dentistry: Plaque-controlling surface modifiers

J Biomat Sci Polymer Edition 1997; 8: 623-653

Yoshino N., Yamauchi T., Kondo Y., Kawase T., Teranaka T
Plaque-controlling surface modifier containing fluorocarbon chain
Reactive & Functional Polymers 1998; 37: 271-282

7. Danksagung

Mein Dank für die stete Begleitung und hilfreiche Unterstützung bei der Erstellung meiner Dissertation gilt in besonderem Maße Herrn Prof. Dr. Matthias Hannig.

Ich bedanke mich auch bei allen Mitarbeitern der Universitätskliniken Homburg für die freundliche Unterstützung und Hilfestellung während der Versuchsreihen.

Danken möchte ich außerdem den Mitarbeitern des Instituts für Neue Materialien in Saarbrücken ohne deren Mitarbeit bei der Beschichtung der Prüfkörper diese Dissertation nicht möglich gewesen wäre.