

AUS DEM LEHRSTUHL
Der Poliklinik für Zahnärztliche Prothetik
(Direktor: Prof. Dr. G.Handel)
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

EINFLUSS VON RAUHEIT UND HYDROPHOBIZITÄT VON KERAMIK- UND
TITAN-IMPLANTAT OBERFLÄCHEN AUF DIE INITIALE BIOFILMBILDUNG

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Stefan Kreis

2014

AUS DEM LEHRSTUHL
Der Poliklinik für Zahnärztliche Prothetik
(Direktor: Prof. Dr. G.Handel)
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

EINFLUSS VON RAUHEIT UND HYDROPHOBIZITÄT VON KERAMIK- UND
TITAN-IMPLANTAT OBERFLÄCHEN AUF DIE INITIALE BIOFILMBILDUNG

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin

der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Stefan Kreis

2014

Dekan:	Prof. Dr. Dr. Thorsten Reichert
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Ralf Bürgers
2. Berichterstatter:	PD. Dr. Dr. Tobias Ettl
Tag der Disputation:	16.2.2015 Regensburg 25.2.2015 Göttingen

Für meine Eltern und meine Familie

0 Inhaltsverzeichnis

0	Inhaltsverzeichnis	7
1	Einleitung	9
2	Literaturübersicht	11
2.1	Orale Biofilme	11
2.1.1	Speichel und Pellikel	11
2.1.2	Mikroorganismen und Biofilmbildung	14
2.2	Biomaterialien und deren Eigenschaften	22
2.2.1	Hydrophobizität und freie Oberflächenenergie surface free energy (SFE)	22
2.2.2	Rauheit und Messmethoden	24
2.2.3	Titan-Implantate	27
2.2.4	Keramik-Implantate	29
2.3	Mikroorganismen	31
2.3.1	<i>Streptococcus sanguinis</i> (<i>S. sanguinis</i>)	31
2.3.2	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (<i>S. epidermidis</i>)	33
3	Fragestellung	35
4	Material und Methode	36
4.1	Material	36
4.1.1	Mikroorganismen	36
4.1.2	Künstlicher Speichel	36
4.1.3	Probekörper	37
4.1.4	Fluoreszenzfarbstoff	37
4.1.5	Geräte und technische Materialien	40
4.2	Methode	41
4.2.1	Versuchsvorbereitung	41
4.2.2	Versuchsdurchführung	46

5 Ergebnisse	52
5.1 Charakterisierung der Implantatmaterialien.....	52
5.1.1 Rauheiten.....	52
5.1.2 Freie Oberflächenenergie (surface free energy, SFE)	53
5.1.3 Rasterkraftmikroskop (AFM)	53
5.2 Initiale Biofilmbildung.....	57
5.2.1 Einfluss der Oberflächenrauheit (1. Versuchsreihe)	57
5.2.2 Einfluss der Hydrophobizität (2. Versuchsreihe)	61
6 Diskussion	67
6.1 Methoden.....	67
6.1.1 Biofilmmodell.....	67
6.1.2 Auswertung	69
6.2 Material.....	70
6.2.1 Testkeime (<i>S. sanguinis</i> und <i>S. epidermidis</i>).....	70
6.2.2 Fluoreszenzfarbstoff.....	71
6.2.3 Titan	72
6.2.4 Keramik.....	72
6.3 Ergebnisse.....	74
6.3.1 Implantatmaterialien (Titan / Zirkoniumdioxid)	74
6.3.2 Einfluss der Rauheit	75
6.3.3 AFM.....	77
6.3.4 Einfluss SFE und Hydrophobizität.....	79
7 Schlussfolgerungen	83
8 Zusammenfassung	84
9 Abkürzungsverzeichnis	85
10 Literaturverzeichnis	87
11 Danksagung	109

1 Einleitung

Enossale Dentalimplantate stellen seit den 1970er Jahren eine wissenschaftlich anerkannte Therapiemöglichkeit für den Ersatz von verlorengegangenen Zähnen oder bei Nichtanlagen dar [ADELL et al., 1981]. An Implantaten werden prothetischer Zahnersatz sowie Epithesen verankert [KOECK und WAGNER, 2004]. Selbst in der kieferorthopädischen Behandlung werden Implantate bei entsprechender Indikation eingesetzt [ROSE et al., 2006; NG et al., 2012; NIENKEMPER et al., 2012]. Aufgrund der biophysikalischen Eigenschaften und der hohen Biokompatibilität von Titan hat sich dieses bis heute als das am häufigsten verwendete Grundmaterial für Implantate bewährt [BALAMURUGAN, 2007]. Zum klinischen Einsatz kommen bei Titanimplantaten unterschiedliche Oberflächenmodifikationen [LANG et al., 2011; GIORDANO et al., 2011; MISTRY et al., 2011]. Die Unterschiede finden sich in der Mikrostruktur der Oberfläche, welche verschiedene Rauheitsgrade oder Beschichtungen aufweisen kann. Diese Mikrostruktur kann glatter oder rauer gestaltet sein und führt in unterschiedlicher Intensität zur Osseointegration, der sogenannten reizlosen knöchernen Einheilung von Titanimplantaten und ist somit für die langfristige Funktionsfähigkeit entscheidend [BRÅNEMARK et al., 1977; TJELLSTRÖM et al., 1983; SCHROEDER, 1979]. Biologische Komplikationen beziehungsweise periimplantäre Erkrankungen wie Mukositis und Periimplantitis sowie Komplikationen des Weichgewebes wie Fisteln oder Hyperplasien stellen das Hauptrisiko für implantologischen Misserfolg dar [LANG et al., 2004]. Implantatoberflächen sind der oralen Mundhöhle und somit der risikobehafteten mikrobiellen Besiedelung exponiert [QUIRYNEN et al., 2002]. Materialien aus Zirkoniumdioxid wurden als Alternative zu Titanimplantaten wegen der besseren Ästhetik, der hohen Biegefestigkeit, ihrer Härte, der besseren Gewebeverträglichkeit [KOHAL et al., 2003] und des verringerten Potentials zur Anlagerung von Mikroorganismen entwickelt [SCARANO et al., 2004]. Die initiale Besiedelung des Implantates mit pathogenen Mikroorganismen stellt eine der wichtigsten Ereignisse bei plaque-assoziierten Krankheiten, wie beispielsweise der Periimplantitis, dar [SCARANO et al., 2004]. Es wird versucht die Qualität und Quantität der mikrobiellen Besiedelung durch das Implantatmaterial zu reduzieren, speziell durch Modifikationen der spezifischen physikalisch-chemischen

Oberflächeneigenschaften des Materials. In der modernen Biomaterialforschung werden die Oberflächen von Implantatmaterialien so verändert, dass eine Adhäsion des Biofilms reduziert wird und gleichzeitig die knöcherne Integration im Alveolarknochen erhöht werden kann [LANG et al., 2011; GIORDANO et al., 2011; MISTRY et al., 2011]. Innovative Implantatmaterialien, Oberflächenmodifikationen mit reduzierten Haftigenschaften oder mit antibakteriellen Additiva sind dabei von hohem klinischen Interesse. Zu den wichtigsten materialabhängigen Einflussfaktoren für die Biofilmbildung an Oberflächen gelten Rauheit, die chemische Materialzusammensetzung, die Benetzbarkeit sowie die freie Oberflächenenergie [YEO et al., 2012].

Eine definiert hohe Mikro- und Makrostrukturierung von Implantatoberflächen führt zu einer schnelleren und besseren Einheilung in den umgebenden Knochen [BUSER et al., 1991; WENNERBERG et al., 1998]. Jedoch zeigen die meisten Studien auch eine positive Korrelation zwischen Oberflächenrauheit und der Menge der anhaftenden Bakterien [SCARANO et al., 2004; RIMONDINI et al., 2002; QUIRYNEN et al., 2002]. SUBRAMANI et al. (2009) kamen zu dem Ergebnis, dass eine erhöhte Rauheit und freie Oberflächenenergie die bakterielle Anlagerung begünstigt.

In der vorliegenden Studie sollten definierte Oberflächenrauheiten und Hydrophobizitäten auf verschiedenen Implantatmaterialien untersucht werden. Soweit bekannt sind beide Faktoren und in Ihrer Wechselwirkung noch nicht wissenschaftlich untersucht worden. Es sollte untersucht werden, ob Unterschiede im bakteriellen Adhärenzverhalten unter den Einflüssen der Rauheit, der Morphologie und der freien Oberflächenenergie auftreten. Hierfür wurden die beiden Bakterienstämme *Streptococcus sanguinis* und *Staphylococcus epidermidis* als Testkeime verwendet und miteinander verglichen.

2 Literaturübersicht

2.1 Orale Biofilme

2.1.1 Speichel und Pellikel

Die besonderen Gegebenheiten der Mundhöhle machen eine mikrobielle Biofilmbildung möglich. Eine wichtige Komponente in der Mundhöhle stellen die Speicheldrüsen dar. Sie produzieren den Speichel als Grundlage jeder mikrobiologischen Besiedelung. Es sind die großen Speicheldrüsen *Glandula parotis*, *Gl. Sublingualis* und *Gl. Submandibularis*, die zu etwa 90% an der Speichelproduktion beteiligt sind [DEETJEN et al., 2005]. Zusammen mit den zahlreichen kleinen Speicheldrüsen werden am Tag etwa 0,6 -1,5 Liter sezerniert [MESE et al., 2007; MURER et al., 2005; PEDERSEN et al., 2002; VAUPEL et al., 2007]. In Ruhe hat der Speichel einen pH-Wert von 6,5 – 6,9, welcher bei Stimulation bis auf pH 7,2 ansteigen kann [AXELSSON, 2000; VAUPEL et al., 2007].

Sein höchster prozentualer Bestandteil ist Wasser mit 99% [HUMPHREY et al., 2001]. Weitere Bestandteile sind organisch und anorganisch, die jeweils interindividuell stark schwanken [VAUPEL et al., 2007]. Natrium, Kalium, Calcium, Phosphat, Chlorid, Magnesium und Hydrogenkarbonat zählen dabei laut BUDDECKE (1981) zu den wichtigsten anorganischen Bestandteilen. Weitere Ionen sind Kupfer, Fluor, Jod und Stickstoffverbindungen. Die organischen Bestandteile werden zum größten Anteil aus Makromolekülen (Muzine, Glykoproteine, prolinreiche Proteine), Enzymen (Lipasen, Amylasen, Lysozym), Laktoferrin und sekretorischen Immunglobulinen A, aber auch aus Harnstoff, Harnsäure, Lactat, Glucose, Citrat und reduzierenden Substanzen gebildet [BUDDECKE, 1981; MYERS und FERRIS, 2007; VACCA et al., 2000; MESE et al., 2007].

Neben Spül-, Puffer-, Andauungsfunktion, De- und Remineralisation [HARA et al., 2010, 2006; HUMPHREY et al., 2001] sowie antibakterieller und antiviraler Funktion des Speichels [HUMPHREY et al., 2001], fördert und begünstigt dieser die Adsorption (Anreicherung von Stoffen an der Oberfläche eines Festkörpers) der Makromoleküle auf den oralen Oberflächen, die Substratbereitstellung für die bakterielle Energiegewinnung und damit deren Wachstumsmöglichkeit [aus

KLIMEK, 2007]. Hierbei zeigen die einzelnen Speichelkomponenten für die Grundsubstanz der Zähne, dem Hydroxylapatit, unterschiedliche Affinitäten [LENDENMANN et al., 2000].

Die Pellikel-bildung ist der erste Schritt in der Biofilmbildung [KOHAVI et al., 1995]. Durch die selektive Adsorption von Proteinen aus dem Speichel an der Zahnoberfläche entwickelt sich eine Schicht aus Biopolymeren, der Pellikel (sog. Schmelzoberhäutchen oder *acquired pellikel*) [ARMSTRONG, 1967; RYKKE et al., 1990; YAO et al., 2001]. Diese Biopolymereschicht entsteht innerhalb von Sekunden auf gereinigten Schmelzoberflächen [NORDE, 1984]. Nach HANNIG (1999b) und VACCA et al. (2000) erfolgt die Pellikelbildung in Minuten. Es ist somit der erste Belag, der frei von Bakterien ist und auf Zahn- und Zahnersatzoberflächen haftet [HANNIG et al., 2007b].

Der molekulare Aufbau des Pellikels ist komplex. STIGLER und HANNIG (2003) fassten alle Proteine des Pellikels, die durch in-vivo- und in-vitro-Untersuchungen identifiziert worden sind, zusammen. Zu diesen zählen prolinreiche Proteine (Vorläuferproteine), Statherin (Kalzium-Präzipitations Verhinderer), Histatin (zytotoxische Wirkung auf Pilze und Bakterien), α -Amylase (Stärkeabbau), Glycosyltransferasen (Katalysator für 1,3-glykosidische Bindungen), Carboanhydrase (Säureregulation), Lysozym (Zerstörung der Bakterienzellwand), Laktoferrin (Bakteriostatische Wirkung), MG-1 & MG-2 (Lubrikant), Cystatin (antibakterielle und antivirale Eigenschaften), S-IgA (Immunabwehr), Albumin (kolloidosmotische Druck, Transporter), Komplementfaktor 3/3c (Aktivierung des Komplementsystems), Fibrinogen (Faktor I der Blutgerinnung), Fibronektin (Gerüstprotein), Agglutinin (Verbindung von Bakterien), Calgranulin B (Kalzium-Bindung) und Cytokeratin (Zellstrukturprotein) [STIGLER und HANNIG, 2003].

Teile der im Speichel vorkommenden Proteine wurden auch im Pellikel gefunden [LI et al., 2004b]. Damit ist die Adsorption hoch selektiv [HANNIG et al., 2009a]. Des Weiteren sind Kohlenhydrate [MAYHALL et al., 1976], Lipide [SLOMIANY et al., 1986] sowie Aminosäuren [SÖNJU et al., 1975; AL-HASHIMI et al., 1989; RYKKE et al., 1989; YAO et al., 2003] enthalten. Die Transaminasen AST und ALT sind weitere Enzyme im Pellikel, die zur intrinsischen Reifung der Pellikel-Proteine beitragen [HANNIG et al., 2009a]. Die Adsorption von Proteinen während der Interaktion mit der intraoralen Festkörperoberfläche und die dabei entstehende Biopolymereschicht, erfolgt über verschiedene Bindungstypen. THYLSTRUP (1986) beschrieb, dass durch Calcium-Ionen die Schmelzoberfläche negativ

geladen wird, weil diese Ionen eine hohe Affinität besitzen in Lösung zu gehen, die unter physiologischen Bedingungen jedoch neutralisiert wird. Nach HAY (1973) und BENNICK et al. (1981) erfolgt die Adsorption der Biopolymere des Speichels initial über elektrostatische Bindungen mit Calcium- und Phosphatgruppen der Hydratationsschicht des Schmelzes. Die elektrostatischen Kräfte auf biologischen Oberflächen werden aus den Van-der-Waals-, Ionen- und Dipolkräften sowie aus Wasserstoffbrückenbindungen initiiert [GLANTZ et al., 1999]. Van OSS (2003) unterschied in den wirkenden Kräften große (50-100 nm, Van-der-Waals- und Coulombkräfte) mittlere (10-50 nm, hydrophobe Wechselwirkungen) und kurze (ca. 5 nm, elektrostatische und Säure-Base Wechselwirkungen, ionische Bindungen, kovalente Bindungen und Wasserstoffbrückenbindungen) Wirkungsbereiche. Dabei treten die verschiedenen Arten von Wechselwirkungen gleichzeitig auf und die Adsorption von Proteinen auf der dentalen Oberfläche ist das Resultat [HANNIG und HANNIG, 2009; HANNIG et al., 2006].

Die freie Oberflächenenergie beschreibt dabei die entscheidenden Oberflächeneigenschaften. Der Kontaktwinkel als Funktion der Oberflächenenergie definiert die Wechselwirkungen von Flüssigkeiten mit Festkörperoberflächen maßgeblich [JENDRESEN et al., 1981; de JONG et al., 1982]. Nach der Anhaftung auf der Oberfläche werden die Proteine durch die auftretenden Kräfte neu ausgerichtet und es findet eine strukturelle Neuordnung statt [GRAY et al., 2004]. Der nun reife Pellikel hat ambivalente Eigenschaften, bedingt durch seine Inhaltstoffe. Er ist Lubrikant, Schutzfilm, antierosive Barriere und hat direkte antibakterielle Eigenschaften (S-IgA). Zudem kann er die bakterielle Adhäsion über spezifische Bindungen erleichtern. [HANNIG und JOINER, 2006; HARA et al., 2006; LENDENMANN, et al., 2000]. Amylase, prolinreiche Proteine, Mucin, MG 2, Fibrinogen und Lysozym werden dazu als spezifische Rezeptoren für die bakterielle Adhärenz benannt [HANNIG et al., 2004a+b; HANNIG et al., 2006; HANNIG und HANNIG, 2009].

2.1.2 Mikroorganismen und Biofilmbildung

Ein Biofilm ist eine mikrobiell akkumulierte, sessile Gemeinschaft, deren Zellen die Eigenschaften haben, irreversibel auf einem Substrat, an Grenzflächen oder aneinander zu adhären. Die Zellen des Biofilms sind in einer Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS, umhüllende Schleimmatrix) eingebettet, die sie selbst produzieren, und sie weisen im Vergleich zu planktonischen Zellen einen veränderten Phänotyp in Bezug auf Wachstumsrate und Gen-Transkription auf [DONLAN und COSTERTON, 2002].

Die Mikroorganismen, die nicht adhären, sondern frei schwebend in einer wässrigen Umgebung gefunden werden, werden als planktonische Zellen bezeichnet und bilden sich überwiegend in hochhydriertem Milieu [O'TOOLE et al., 2000]. Es gibt somit im Grundsatz zwei verschiedene Formen mikrobieller Lebensweisen. Planktonisch erfolgt das bakterielle Wachstum frei schwebend in Suspensionen, während bei der mikrobiellen Biofilmbildung das bakterielle Wachstum auf festen Oberflächen erfolgt [COSTERTON et al., 1994a+b]. Diese mikrobiellen Gemeinschaften bilden Mikrokolonien aus, die miteinander durch sehr komplexe Kommunikations-Methoden, auch als *quorum sensing* bezeichnet, interagieren [HUANG et al., 2011]. Biofilme werden als eigenes Ökosystem betrachtet und haben die Fähigkeit sensibel auf Umweltreize zu reagieren [COSTERTON et al., 1994b; LILJEMARK et al., 1997]. Sie sind vor allem verantwortlich für die Entwicklung chronischer Infektionen [HOYLE und COSTERTON, 1991]. Bakterien des oralen Biofilms führen zu den Infektionskrankheiten Karies, Gingivitis, Parodontitis, Peri-Implantitis und Stomatiden [SUBRAMANI et al., 2009].

2.1.2.1 Aufbau und Bildung

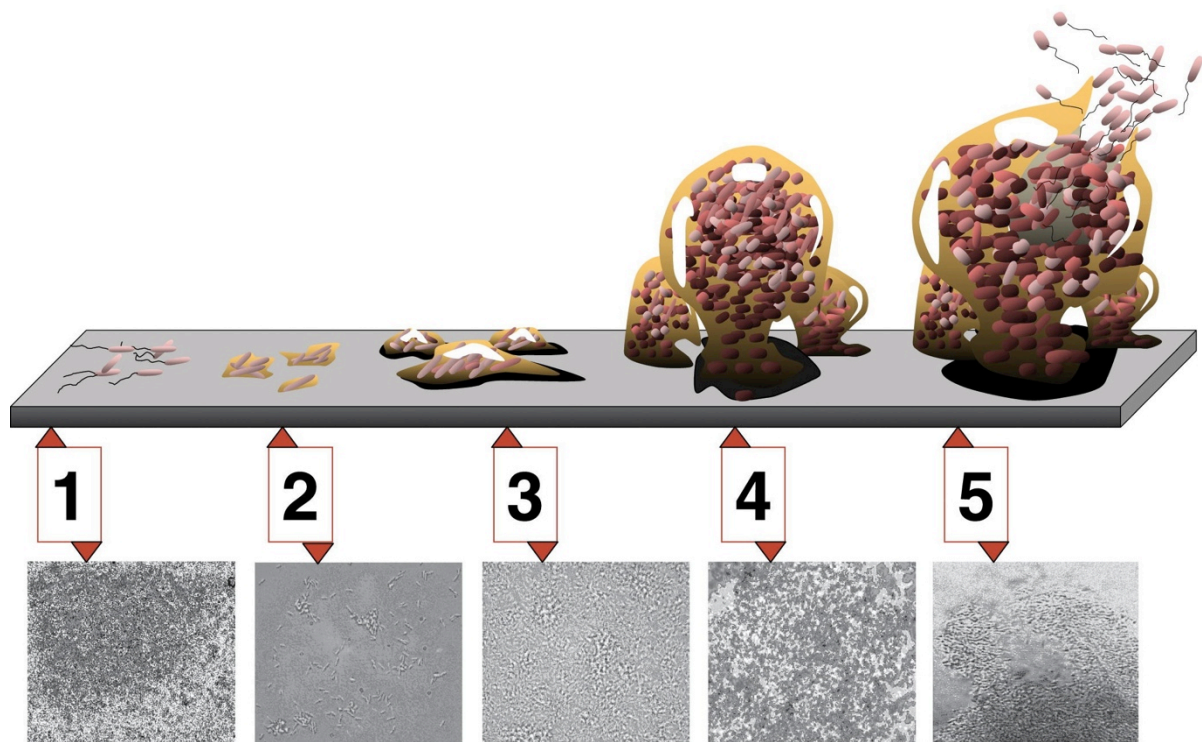


Abb. 1 Phasen der Biofilmentwicklung [Monroe, 2007]

In der Literatur werden vier Stadien der Biofilmbildung beschrieben: 1. Transport der Mikroorganismen zur Materialoberfläche, 2. Initiale Adhäsion, 3. Irreversible Bindung oder sekundäre Adhäsion und 4. Kolonisation oder Reifung [BOS et al., 1999; DOYLE und ROSENBERG, 1990; SCHEIE et al., 1994]. Ein aktuell fünftes Stadium fügt sich hinzu, das sogenannte *quorum sensing*, in dem über anspruchsvolle Kommunikationsformen untereinander genetische Programme aktiviert werden (zum Beispiel zur kollektiven Ablösung) [HUANG et al., 2011] (**Abb. 1**).

Der zur irreversiblen Adhäsion und damit für das Fortbestehen und zur Proliferation von Bakterien wichtige Transport zu intraoralen Oberflächen kann passiv durch Brown'sche Molekularbewegungen oder aktiv durch Eigenbewegungen der Mikroorganismen erfolgen [BRADSHAW et al., 2001, THEUGELS et al., 2006; AN und FRIEDMANN, 1998; BOS et al., 1999].

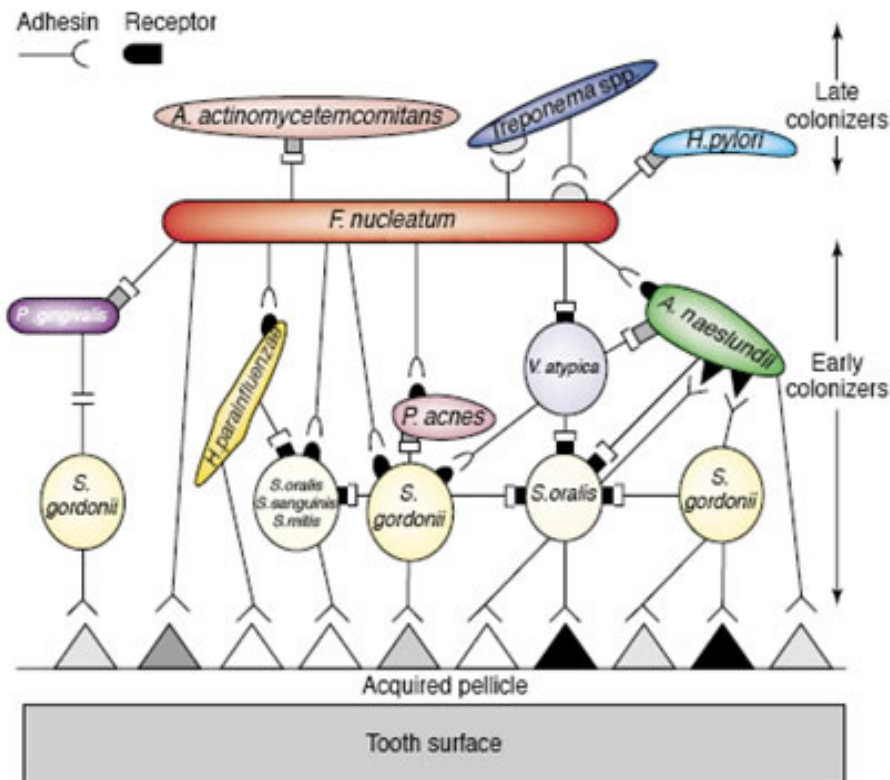


Abb. 2 Schematische Skizze der Anordnung von Bakterienstämmen, die dentale Biofilme bilden. [aus RICKARD et al., 2003]

Die initiale Adhäsion ist der zweite Schritt in der Biofilmbildung und hat zudem Einfluss auf die reife Biofilm-Zusammensetzung [HAUSER-GERSPACH et al., 2007; KOLENBRANDER, 2000]. Hierbei adhären selektiv sogenannte Pionierbakterien, vor allem Kokken (z.B. *Streptococcus mitis* (*S. mitis*), *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*), *Streptococcus oralis* (*S. oralis*)) und Actinomyceten (z.B. *Actinomyces naeslundii* (*A. naeslundii*)), (**Abb. 2**) [DIAZ et al., 2006; LI et al., 2004a; COWAN et al., 1987].

Dabei verstärkt die aktive Bildung von spezifischen Interaktionen (physikalischen / chemischen) zwischen Bakterien und Speichelproteinen die Adhäsion [van der MEI et al., 2008; HERMANSSON, 1999]. COWAN et al. (1987) folgern, dass eine Kombination aus elektrostatischen und hydrophoben Wechselwirkungen die initiale Adhäsion von *S. sanguinis* zum Pellicel vermittelt. Dabei stellten sich Adsorptions- und Desorptionsvorgänge ein [COWAN et al., 1986]. Nach MEI et al. (2009); BUSSCHER und van der MEI (1997) treten in der initialen Adhäsion Wasserstoffbrückenbindungen und unspezifisch abstoßende und anziehende Kräfte auf, wobei Wasserstoffbrückenbindungen durch Van-der-Waals-Kräfte

überwiegen. Dies gilt vor allem für Pionierbakterien wie *S. sanguinis* und *S. mitis* [MEI et al., 2009]. Dabei überlagern die Van-der-Waals-Kräfte die mögliche Existenz von abstoßenden Wechselwirkungen [HERMANSSON, 1999]. Jedoch auch TEUGHELIS et al. (2006) teilen die auftretenden Kräfte in abstoßende, anziehende oder in das Vorhandensein beider Kräfte ein. Diese ausgewogene Interaktion zwischen abstoßenden und anziehenden Wechselwirkungen wird in der sogenannten DLVO-Theorie von DERJAGUIN und LANDAU beschrieben [GLANTZ et al., 1999; HERMANSSON, 1999]. Zu dem kann mit dieser Theorie die in einer wässrigen Lösung stattfindende Interaktion zwischen negativ geladenen Bakterien und der negativ geladenen Festkörperoberfläche beschrieben werden [HANNIG und HANNIG, 2009]. Nach HANNIG und HANNIG (2009) erfolgt die initiale bakterielle Besiedelung und Adhäsion an einer Pellikel-beschichteten Oberfläche durch Fimbrien, Kräften mit langem, mittlerem und kurzem Wirkungsbereich und durch spezifische Rezeptor-Adhäsion-Wechselwirkungen. Die Kräfte können dabei anziehend (hydrophobe Wechselwirkungen, Van-der-Waals-Kräfte, Wasserstoffbrücken, Kalzium-Brücken), abstoßend (elektrostatische Wechselwirkungen) oder beides (Säure-Base-Wechselwirkungen) sein [THEUGELIS et al., 2006]. Nach McCONNELL (2010), spielen für eine initiale Adhäsion die Kombination von elektrostatischer Abstoßung und die Calcium-Ionen-Abgabe aus der Schmelzoberfläche eine wichtige Rolle, da sie den Effekt der bakteriellen Reduzierung haben.

In der frühen Phase der Kolonisation von *S. sanguinis* spielen zwei Schlüsselfaktoren eine Rolle, physiko-chemische Oberflächencharakteristika der Substrate und die stereospezifischen Wechselwirkungen mit dem Pellikel [HAUSER-GERSPACH et al., 2007; HERMANSSON, 1999]. Die Größe der dabei auftretenden „Gesamt-Adhäsionskraft“ beruht nach Überlegungen von MEI et al. (2009) auf dem Wechselspiel zwischen der Anzahl an ausgebildeten Bindungen und deren Stärke. Wichtige Bindungspartner zwischen Pellikel und Bakterien sind die Adhäsine, sogenannte Bindungsproteine, die auf der Bakterienoberfläche lokalisiert sind [KELLY et al., 1990; OFEK et al., 1990; ABEYGUNAWARDANA et al., 1991]. Als die für die Adhäsion wichtigsten bakteriellen Protein-Adhäsine-Gruppen bezeichnen NOBBS et al. (2011) die Serine-rich-repeat (Srr) Familien, Antigen I/II Familien, Pili/Fimbrien, Proteine der äußeren Membran und Auto-transporter (siehe **Tab. 1**).

Protein Group	Protein(s)	Species	Function(s) and/or Substrata
Serine-rich repeat (Srr) family	FapI	<i>S. parasanguinis</i>	Salivary pellicle
	Hsa/GspB	<i>S. gordonii</i>	Salivary pellicle (gp-340); fibronectin; host cells
Antigen I/II family	SpaP	<i>S. mutans</i>	Salivary pellicle; host cells ($\alpha_5\beta_1$ integrins); fibronectin; type I collagen; laminin
	SspA/SspB	<i>S. gordonii</i>	Salivary pellicle (gp-340); host cells ($\alpha_5\beta_1$ integrins); fibronectin; type I collagen; co-aggregation (<i>Actinomyces</i> spp., <i>P. gingivalis</i> , <i>C. albicans</i>)
Pili/Fimbriae	FadA	<i>F. nucleatum</i>	Epithelial/endothelial cells
	FimA (major) fimbriae; Mfa1 (minor) fimbriae	<i>P. gingivalis</i>	Host cells ($\alpha_5\beta_1/\alpha_5\beta_1$ integrins); fibronectin; type I collagen; co-aggregation (<i>S. gordonii</i>)
	FliP1	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	Epithelial cells; salivary pellicle
	FimP/Q (type I)/ FimA/B (type 2)	<i>A. oris</i>	Salivary pellicle; host cells; (Gal-GalNAc receptors); co-aggregation (<i>Streptococcus</i> spp.)
Outer membrane proteins	PilA, B, C	<i>S. sanguinis</i>	Fibronectin; epithelial cells
	FomA	<i>F. nucleatum</i>	Porin protein; salivary pellicle (statherin); co-aggregation (<i>P. gingivalis</i>)
	HBP35	<i>P. gingivalis</i>	Co-aggregation (<i>A. naeslundii</i> ; <i>S. gordonii</i> ; <i>S. mutans</i>)
	Msp	<i>T. denticola</i>	Epithelial cells; fibronectin, fibrinogen, laminin, type I collagen; co-aggregation (<i>F. nucleatum</i> ; <i>P. gingivalis</i>)
Auto-transporters	Aae/ApiA/EmaA RadD	<i>A. actinomycetemcomitans</i> <i>F. nucleatum</i>	Epithelial cells; type I collagen Co-aggregation (<i>Streptococcus</i> spp.)

Tab. 1 Dargestellt sind eine ausführliche Aufstellung der bakteriellen Protein-Adhäsine und deren funktionelle Eigenschaften [aus NOBBS et al., 2011]

Im dritten Schritt erfolgt die irreversible Adhäsion durch aktive bakterielle Prozesse [FLEMMING et al., 2007]. Nach Anlagerung der sogenannten Pionierbakterien erfolgt die Festigung der bestehenden Adhäsionskräfte zwischen Bakterien und Pellikel-Oberflächen durch Ausbildung spezifischer Bindungen. Dazu fand van der MEI et al. (2008) heraus, dass dabei höhere Adhäsionskräfte in spezifischen Bindungen als in unspezifischen Bindungen auftraten und erklärte dies dadurch, dass sich die Kräfte mit der Zeit verstärkten. Eine Übersicht gibt **Abbildung 3**, die die mikrobiellen Adhäsine als gestielte Saugnäpfe (z.B. Pilus), Pellikel-Rezeptoren als molekulare Sphären und Polysaccharide (RPS und Glucan) als hellgrün umgebenden Halo der Streptokokken-Zellen zeigt [aus NOBBS et al., 2011]. Die Adhäsine sind entsprechend der Nomenklatur in **Tabelle 1** erfasst. Glucan-bindende Proteine (GBP) sind nicht in der **Tabelle 1** enthalten, obwohl diese nach KOO et al. (2010) eine wichtige Rolle in Verbindung mit Glucosyltransferasen (GTF) für die Kolonisierung von *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) spielen. Die Srr-Proteine beschreibt CASPERS (2006) als sehr große zellwandassoziierte Adhäsine [TAKAMATSU et al., 2006]. Sie dienen der Bakterienzelle zur Bindung an den Pellikel. Die so ermöglichte Kolonisierung von Wirtsoberflächen hat auf die Pathogenität von den jeweiligen pathogenen Bakterienstämmen Einfluss [BENSING und SULLAM, 2002].

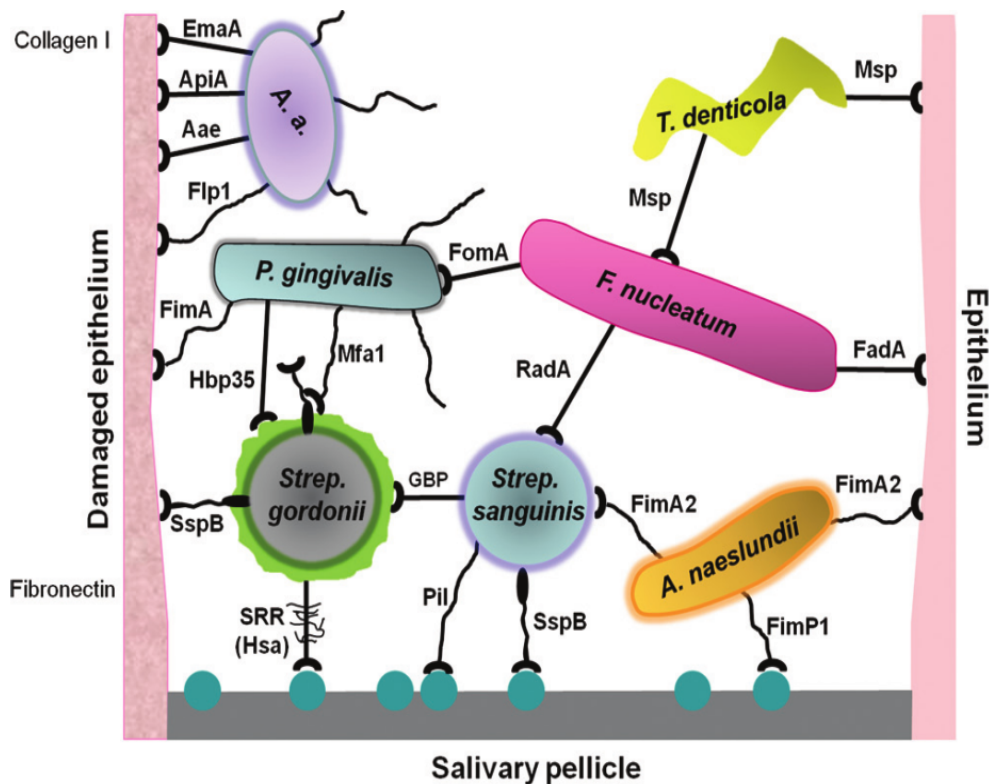


Abb. 3 Schematische Darstellung der auftretenden Wechselwirkungen zwischen oralen Mikroorganismen und dem Wirtsgewebe, die zur Bildung von mikrobiellen Gemeinschaften in der menschlichen Mundhöhle beitragen. [aus NOBBS et al., 2011]

Die bakterielle Monoschicht entwickelt sich im Verlauf der Kolonisations- / Reifungsphase zu einem gereiftem Biofilm, bedingt durch die Proliferation der adhärenen Bakterien und die Anlagerung weiterer Keime (Koadhäsion) [TEUGHELIS et al., 2006]. Diese weiteren Organismen adhären langfristig durch Koaggregation zwischen einem Lektin-Protein und einem Kohlenhydrat-Rezeptor [RICKARD et al., 2003]. Die durch Lektin-Proteine vermittelte Koaggregation zwischen den verschiedenen Bakterienstämmen kann durch Laktose und Galaktoside gehemmt werden [KOLENBRANDER et al., 2006]. SCHIERHOLZ et al. beschrieb schon im Jahr 1999, Adhäsion, Koadhäsion und Koaggregation als spezifische Haftungsmechanismen. Alle oralen Mikroorganismen besitzen membranständige Adhäsionsstrukturen für eine Wechselwirkung mit anderen Bakterien [KOLENBRANDER et al., 1993]. Laut LI et al. (2004a) und DIAZ et al. (2006) fördern Koaggregationen und Interaktionen zwischen den einzelnen mikrobiellen Anteilen die Entwicklung eines noch komplexeren Biofilms. Innerhalb eines Tages entsteht so ein „Bakterienteppich“ aus Pellicelbestandteilen und

mehrlagigen Zellanordnungen [HELLWIG, 2010]. Förderlich dabei ist eine symbiotische Wirkung unter den Bakterien. Laktat als Stoffwechselprodukt von Streptokokken und Lactobacillen stellt für *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) und Veillonellen eine suffiziente Energiequelle dar und wird als eine entscheidende Antriebskraft in der symbiotischen Verknüpfung zwischen den oralen Biofilmbakterien angesehen [JAKUBOVICS und KOLENBRANDER, 2010]. Die Kommunikation im Biofilm, die als *quorum sensing* bezeichnet wird, nutzen Bakterien um Prozesse zu koordinieren [HUANG et al., 2011]. Eine solche Kommunikation durch Wechselwirkungen zwischen den Bakterien und bakteriellen Spezies in der Mundhöhle führt dabei in einem oder in beiden der Partnerorganismen zu Veränderungen in der Genexpression [JAKUBOVICS und KOLENBRANDER, 2010]. Die Genexpression führt zur Induktion von Signalmolekülen und diese regen wiederum die Zellen im Biofilm zur Produktion von Botenstoffen an [LÖFFLER et al., 2007]. Die Folgen des *quorum sensing* sind Bildung von Clustern, Ausprägung von Pathogenitätsfaktoren (Erhöhung der bakteriellen Resistenzen) und eine spezifische Enzymproduktion [SCHULZE et al., 2008].

Der gereifte Biofilm auf oralen Oberflächen wird auch als dentale Plaque bezeichnet [HEIDEMANN und BECKER, 1999]. Die Bedingungen für die Mikroorganismen in der Plaque ändern sich zeitabhängig und damit auch ihre Zusammensetzung. Die Pionierbakterien, die eine zentrale Rolle bei der initialen Adhäsion spielen, sind nur in geringer Anzahl vorhanden und eine Zunahme von obligat anaeroben Bakterienarten (Veillonellen, Fusobakterien, Stäbchen, Corynebakterien und Filamente) ist zu verzeichnen [MARSH et al., 2003]. Die dentale Plaque kann dann nicht mehr durch eigene Selbstreinigungskräfte der Mundhöhle entfernt werden [MARSH et al., 2004].

2.1.2.2 Zusammensetzung

Biofilme bestehen zu einem Großteil aus Wasser [DONLAN und COSTERTON, 2002]. Dabei sekretieren die Mikroorganismen durch aktive Ausscheidung oder durch Zellyse lange extrazelluläre polymere Moleküle (EPS), die in Verbindung mit Wasser Hydrogele bilden, so dass die Matrix, ein makromolekulares Gerüst für die umgebenden Zellen entsteht, in welchem Nährstoffe und andere Substanzen gelöst sind [JAKUBOVICS und KOLENBRANDER, 2010]. Das Matrixspektrum aus Biopolymeren umfasst Polysaccharide, Proteine, Lipide und Nukleinsäuren [FLEMMING und WINGENDER, 2010]. Die Polysaccharide werden durch Streptokokken produziert, die eine große Rolle in der Entwicklung der dentalen Karies spielen [RUSSELL, 2009]. Nach DEWHIRST et al. (2010) wurden 619 Bakterienspezies in der Mundhöhle sequenziert, dabei entfallen auf die sechs großen Stämme Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobakterien, Actinobakterien, Spirochäten und Fusobakterien 96% der Taxa. Die übrigen Stämme, Euryarchaeota, Chlamydiae, Chloroflexi, SR1, Synergistetes, Tenericutes und TM7 machen die restlichen 4% der Taxa aus [DEWHIRST et al., 2010].

2.2 Biomaterialien und deren Eigenschaften

2.2.1 Hydrophobizität und freie Oberflächenenergie surface free energy (SFE)

Analysen zur SFE auf Materialoberflächen erfolgen beispielsweise über Kontaktwinkelmessungen. Aus Kontaktwinkelmessungen mit verschiedenen Flüssigkeiten kann die freie Oberflächenenergie (SFE) errechnet werden [BUSSCHER et al., 1984]. Dabei wurde eine Korrelation zwischen Hydrophobizität und freier Oberflächenenergie festgestellt. Denn steigt die Hydrophobizität so sinkt die freie Oberflächenenergie [van LOOSDRECHT et al., 1987]. Die freie Oberflächenenergie wird dabei in der SI-Einheit J/m^2 oder in Nm/m^2 angegeben [ADAM, 2009]. Die freie Oberflächenenergie beschreibt die Gesamtenergie einer Festkörperoberfläche und ist vergleichbar mit der auftretenden Oberflächenspannung bei Flüssigkeiten, die zur Beschreibung der freien Oberflächenenergie auf Grenzflächen von Flüssigkeiten dient [HANNIG und HANNIG, 2009]. Dabei haben die polaren Gruppen die Eigenschaft der Hydrophilie und zeigen eine höhere freie Oberflächenenergie [ATKINS und de PAULA, 2001] und sind hochenergetisch [QUIRYNEN und BOLLEN, 1995]. Hydrophobe Wechselwirkungen haben einen großen Einfluss auf viele Arten von Strukturbildungen in biologischen Systemen, z.B. Faltung von Proteinen und Membranen [GLANTZ et al., 1999].

Orale Oberflächen werden in kürzester Zeit mit einem proteinreichen Film, dem Pellikel überzogen [VACCA et al., 2000; HANNIG, 1999b]. Die Proteinbildung (Pellikelbildung) auf oralen Oberflächen führt zur Anhebung der SFE (surface free energie) auf Materialien mit niedriger Oberflächenenergie und zur Abnahme der SFE auf Materialien mit hoher Oberflächenenergie [van DIJK et al., 1987]. Da es an hydrophilen Oberflächen bevorzugt zu Wasseranlagerungen kommt, wird ein Adhären von Proteinen vermindert [LINDH et al., 2002]. Dementsprechend wurde auf hydrophoben Oberflächen eine schnellere und höhere Adhärenz von Proteinen beobachtet [LINDH et al., 2002]. Bei der bakteriellen Adhäsion kommt es zu einem Zusammenwirken von freier Oberflächenenergie des Bakteriums und der Substratoberfläche sowie der Oberflächenspannung der umgebenden Flüssigkeit [ABSOLOM et al., 1983]. Ist die Oberflächenspannung der umgebenden Flüssigkeit größer als die freie Oberflächenenergie des Bakteriums,

so wird die freie Energie der Adhäsion weniger negativ, was zu einer vermehrten Adhäsion von Bakterien auf niedrigenergetischen und damit hydrophoben Oberflächen führt [QUIRYNEN und BOLLEN, 1995]. Die molekulare Struktur scheint dabei eine Schlüsselrolle zu spielen.

Die bakterielle Adhäsion ist energetisch ungünstig, wenn der Wert der freien Oberflächenenergie vom Zahnschmelz kleiner als $0,05 \text{ J/m}^2$ ist [BUSSCHER et al., 1984]. Auch nach HANNIG et al. (2009) ist eine bakterielle Adhäsion von der Hydrophobizität bzw. Hydrophilie der Pellikel-, Bakterien- und Materialoberfläche abhängig. NÄSER (1990a+b) zeigte, dass hydrophile Oberflächen aufgrund der höheren Reaktionsfreudigkeit von hydrophilen Gruppen eine höhere freie Oberflächenenergie aufweisen. HAUSER-GERSPACH et al. (2007) zeigten dass Hydrophobizität im Beisein von adsorbierten Speichelkomponenten einen signifikanten Einfluss auf die bakterielle Adhäsion auf Dentalmaterialien hat. BOYCE et al. (1983) zeigten das Mucine als Speichelkomponente auf Epitheloberflächen von Hasen diese signifikant stärker hydrophil machten und dass die Mucine dadurch eine sehr niedrige freie Grenzflächenenergie erzeugen, die als Folge die bakterielle Adhäsion hemmen könnte. Auch für TEUGHELIS et al. (2006) ist der Einfluss der freien Oberflächenenergie auf die Adsorption von Bakterien an Oberflächen ein entscheidender Faktor. FERREIRÓS et al. (1989) konnten eine signifikante Korrelation zwischen der freien Oberflächenenergie von biokompatiblen Materialien und der Anzahl der adhärenierten Bakterien feststellen. Nach AL-RADHA et al. (2012) ist scheinbar auf glatten Oberflächen die SFE der wichtigste Faktor für die initiale bakterielle Adhäsion. Gegenüber der Rauheit scheint der Einfluss der freien Oberflächenenergie für die initiale bakterielle Adhäsion jedoch nur von untergeordneter Bedeutung zu sein [BÜRGERS et al., 2010a].

2.2.2 Rauheit und Messmethoden

Die Rauheit intraoraler Oberflächen beeinflusst die bakterielle Adhäsion ebenfalls [YEO et al., 2012]. In der Literatur werden unterschiedliche Methoden zur Messung der Rauheit von Oberflächen beschrieben. Anwendung finden die zweidimensionale Profilometrie (2D-Profilometrie, Tastschnittverfahren), die Raster-Kraft-Mikroskopie (AFM, atomic force microscopy) und die Rasterelektronenmikroskopie (REM). Allgemein ist ein Werkstück mit vollkommener geometrischer Oberfläche nicht zu fertigen [TSCHERNIN, 2003]. Jede Oberfläche weist Abweichungen auf. Es gibt Maßabweichungen, Form- und Lageabweichungen, Welligkeiten und Rauheit in unterschiedlicher Ausprägung. Das Deutsche Institut für Normung listet sämtliche Abweichungen in deren „Ordnungssystem für Gestaltabweichungen“ (DIN 4760) auf. Mit Hilfe der Oberflächenmesstechnik können Oberflächen geprüft und verglichen werden. Dabei gilt die 2D-Profilometrie in der Literatur als suffizient [KOCHER et al., 2002]. Bei der Tastschnittprofilometrie wird die zweidimensionale Oberflächenstruktur abgetastet und in einen eindimensionalen Profilschnitt umgewandelt [STOCKHAUSEN, 2009]. Die Erfassung übernimmt eine kegelförmige Diamant-Tastspitze, die mit Hilfe eines Vorschubgerätes über die Oberfläche geführt wird [STOCKHAUSEN, 2009]. Ein elektromechanischer Wandler an der Tastspitze erzeugt die für den Auswertrechner nötigen elektrischen Signale [STOCKHAUSEN, 2009]. Der Spitzenradius beträgt etwa 5 µm [STOCKHAUSEN, 2009]. Mittels Filter kann die Formabweichung und Welligkeit von der Rauheit getrennt werden.

Mit der Raster-Kraft-Mikroskopie (AFM) ist die atomare Auflösung von Oberflächenstrukturen möglich, wobei die Abtastung zweidimensional erfolgt [STOCKHAUSEN, 2009]. Bei der AFM-Methode wird eine auf einem Federelement befestigte einatomige Spitze durch Vorschub über die Oberfläche geführt. Eine Auslenkung dieses Federelementes wird durch einen Laserstrahl über einen Sensor erfasst, wodurch minimalste Niveauunterschiede detektierbar werden. [STOCKHAUSEN, 2009]

In der Rasterelektronenmikroskopie (REM) können Objekte ohne mechanische Abtastung untersucht werden. Durch die elektronenoptische Verkleinerung eines beschleunigten Elektronenstrahles, der Elektronensonde, können Feinstrukturen erfasst werden. Der Elektronenstrahl wird mit Hilfe von Magnetfeldern über die

Objektoberfläche gelenkt und diese dadurch abgerastert. Die auftreffenden Elektronen können vom Objekt durchgelassen, abgebremst, abgelenkt, gestreut, reflektiert oder sekundär herausgelöst werden. Die Detektion dieser verschiedenen Wechselwirkungen ermöglicht es Informationen über die Beschaffenheit des Objektes zu bekommen. Um Wechselwirkungen mit Atomen und Molekülen aus der Luft zu vermeiden wird ein Hochvakuum erzeugt. Die Auswertung der Signale erfolgt und wird anschließend in Grauwerten dargestellt. Der größte Vorteil dieser mikroskopischen Methode ist seine Vergrößerungsfähigkeit. [ARDENNE, 1938]

Es können so bis zu 1.000.000-fache Vergrößerungen dargestellt werden. Durch Elektronenmikroskopie wurde der Beginn der initialen bakteriellen Adhäsion und Kolonisation in Rissen, Rinnen, Furchen, Perikymatien und Defekten auf Schmelzoberflächen verifiziert [LIE, 1977, 1979; LIE und GUSBERTI, 1979; NYVAD und FEJERSKOV, 1987]. KAKABOURA et al. (2007) verglichen die Oberflächencharakteristiken von Kompositen mit Hilfe von AFM, REM und 2D-Profilometrie. Hierbei war die AFM-Methode besser geeignet um Oberflächenrauheiten zu unterscheiden, als die im Vergleich dazu gemachten 2D-Profilometrien [KAKABOURA et al., 2007]. Die AFM-Methode lieferte eine genauere Definition der Oberflächentopografie als die REM-Aufnahmen [KAKABOURA et al., 2007].

Liegen Rauheitswerte unter $0,2\ \mu\text{m}$ vor, werden Oberflächen von ALBREKTSSON und WENNERBERG (2004), als „glatt“ bezeichnet. In Bezug zu Biofilmen auf Titanoberflächen fanden BOLLEN et al. (1996, 1997) heraus, dass Oberflächen mit einem R_a -Wert von mehr als $0,2\ \mu\text{m}$ die Bildung eines Biofilms erleichtern. Mittenrauheitswerte (R_a) kleiner als $0,2\ \mu\text{m}$ haben keinen Einfluss mehr auf die Biofilmmzusammensetzung und deren Quantität [QUIRYNEN et al., 1996].

In den meisten vergleichbaren Untersuchungen hierzu ist der arithmetische Mittelwert R_a , der Parameter, der die Implantat-Oberflächenrauheit beschreibt [MEIER et al., 2012; AL-AHMAD et al., 2010; BOLLEN et al., 1996, 1997; BÜRGERS et al., 2010]. R_a -Werte scheinen aber alleine nicht ausreichend zu sein, um den Einfluss von Oberflächenbeschaffenheit auf die mikrobielle Besiedelung ausreichend zu definieren [KAKABOURA et al., 2007]. In neueren Studien wurden daraufhin Rauheitsmessungen durch AFM-Aufnahmen (atomic force microscopy) vorgenommen, welche zu einer wesentlich genaueren Beschreibung der Oberflächenmorphologie führten [KAKABOURA et al., 2007;

FAVERANI et al., 2013; SKOVAGER et al., 2013; AL-AHMAD et al., 2010]. Darüber hinaus bietet die AFM-basierte Methodik dynamische und quantitative Informationen über die Protein-Adhäsion im Nanometer-Bereich [WANG et al., 2004].

BÜRGERS et al. (2010a) zeigten zudem, dass raue Oberflächen die bakterielle Adhäsion verbessern, dieses sowohl in in-vivo- als auch in in-vitro-Versuchen. AL-AHMAD et al. (2010) untersuchten die Biofilmbildung auf verschiedenen Implantatmaterialien und kamen zu dem Ergebnis, dass die Biofilmdicke mit der Oberflächenrauheit korreliert. Zusätzlich zur Rauheit ist die freie Oberflächenenergie als Einflussfaktor auf die orale Biofilmbildung weitreichend akzeptiert. Welchen Einfluss beide Parameter (freie Oberflächenenergie und Rauheit) auf die supragingivale Biofilmbildung haben, zeigten QUIRYNEN et al. (1990), in ihrem Versuch mit Polymerstreifen unterschiedlicher Rauheit und hoher sowie niedriger SFE. Raue Oberflächen zeigten eine viermal höhere Biofilmsammlung als glatte. Keine signifikanten Unterschiede zeigten dabei die rauen Oberflächen unterschiedlicher SFEs [QUIRYNEN et al., 1990]. Glatte Oberflächen mit hoher SFE akkumulierten mehr Biofilm als glatte niedrigerenergetische Oberflächen [QUIRYNEN et al., 1990]. QUIRYNEN et al., (1990) kamen zu dem Schluss, dass der Einfluss der Rauheit den Einfluss der freien Oberflächenenergie übersteigt. Dennoch gibt es widersprüchliche Aussagen. So zeigen Proben mit hydrophoben Eigenschaften, dass sich die Mengen der anhaftenden Mikroorganismen durchaus verringern, aber ebenso erhöhen können [GRIVET et al., 2000; HANNIG und HANNIG, 2009]. Obwohl in vielen Studien die Oberflächenrauheit gegenüber der freien Oberflächenenergie als der dominierende Faktor für die bakterielle Adhäsion beschrieben wird, ist dies bisher nicht eindeutig erwiesen [BÜRGERS et al., 2010a+b; QUIRYNEN et al., 1990; TEUGHELIS et al., 2006; GROSSNER-SCHREIBER et al., 2001].

2.2.3 Titan-Implantate

Implantate bestehen heute in den meisten Fällen aus Titan [REPENNING, 2006]. Titan ist ein unedles Metall [ILSCHNER und SINGER, 2010]. Als bioinerter Werkstoff bildet Titan an der Oberfläche, in der Gegenwart von Luftsauerstoff, eine Passivierungsschicht aus Oxid [BENEDITTIS et al., 1999; SIMON und FABRY, 1991; THULL, 1991]. Diese Oxidschutzschicht ist für seine Korrosionsbeständigkeit verantwortlich und ermöglicht die Osseointegration mit dem umgebenden Knochen [BRÅNEMARK, 1985; ALBREKTSSON et al., 1981]. Diese nur wenige Nanometer dicke Schicht [SPIEKERMANN, 1994] auf der Oberfläche von Titanimplantaten kann über Wechselwirkungen menschliche Zellen beeinflussen und im Knochen mit den Osteozyten eine Kontaktosteogenese eingehen [BRÅNEMARK et al., 1977]. Die Oxidschicht besteht aus TiO , TiO_2 , Ti_2O_3 , Ti_3O ; dabei ist das TiO_2 die häufigste Oxidform [ALBREKTSSON et al., 1981, 1983].

Nicht nur die Geometrie der Titanimplantate wurde immer wichtiger, sondern die Oberfläche der Titanimplantate selbst rückte in den Focus der Wissenschaft. Knochenzellen besiedeln bevorzugt raue Oberflächen [BRUNETTE, 1988; KOECK et al., 2004]. Auch eine erhöhte metabolische Aktivität der Osteozyten wurde auf rauen Oberflächen gefunden [KIESWETTER et al., 1996 a+b]. Eine hohe Oberflächenrauheit des transmukosalen Implantatanteiles und der Suprakonstruktion eines dentalen Implantates, stellen einen Risikofaktor für periimplantäre mikrobielle Adhäsion und eine daraus entstehende Periimplantitis dar [QUIRYNEN et al., 2002]. Dementsprechend fanden BÜRGERS et al. (2010a) heraus, dass raue Oberflächen die bakterielle Adhäsion verbessern und dass der Einfluss von Rauheit (R_a) dem Einfluss der SFE überwiegt. Sie folgerten, dass alle mikrostrukturierten Teile, die in der Mundhöhle Mikroorganismen ausgesetzt sind also überhalb des Knochens liegen, hochglänzend poliert werden sollten, um eine antiadhäsive und antiplaque-Wirkung zu erzielen [BÜRGERS et al., 2010a]. Nachteil des Werkstoffes Titan ist unter anderem die Reibkorrosion. Damit ist die Abscherung der Oxidschicht in das umliegende Gewebe beim Auftreten intraoraler Belastung gemeint. [SCHLIEPHAKE et al., 1991]

Desweiteren zeigte Titan eine Infektionsrate von 35%, nach incutaner Impfung von *Staphylococcus aureus*, in einer experimentellen Studie [ARENS et al., 1996]. Nachteilig ist die dunkle Farbe von Titan zu bezeichnen, die bei dünnen

umgebenden Hart- und Weichgeweben zu ästhetischen Beeinträchtigungen führen kann [REPENNING, 2006].

Die Periimplantitis, eine Entzündung in der knöchernen bzw. weichgewebigen Umgebung eines Implantates, die langfristig zum Verlust dieser Gewebe führen kann, kann letztendlich den Verlust des Implantates zur Folge haben [ZEZA und PILONI, 2012]. Sie wird ausgelöst durch pathogene Biofilme [DHIR, 2013; TEUGHELS et al., 2006]. Nach SOUZA et al., (2013) haben bakterielle Biofilme einen negativen Einfluß auf die Korrosionsbeständigkeit von Titanoberflächen. Pathogene Mikroorganismen können die Passivierungsschutzschicht auf Titanimplantaten auflösen und zu Korrosion führen, was die Lebensdauer von diesen reduzieren kann [GIL et al., 2012]. Zudem entsteht durch Mikrobewegungen die sog. „fretting-Korrosion“, was zu einem Abreiben der Oxidschicht führt, die das umliegende Gewebe infiltriert [REPENNING, 2010]. Hinzu kommt die chemische Korrosion des Titans, die zu einer „Schwarzfärbung“ an diesen Stellen führt. Diese Mechanismen können zu einem Implantatverlust beitragen. [REPENNING, 2010]

Chemische [LANG et al., 2011; RUPP et al., 2011; DEL CURTO et al., 2005; HU et al., 2011; FRÖJD et al., 2011] und elektromechanische Modifikationen [GIORDANO et al., 2011; YOSHINARI et al., 2000] sowie Beschichtungen [MISTRY et al., 2011; THOMA et al., 2011] der Implantatoberflächen führen nachweislich zu einer besseren Osseointegration und einer deutlichen Reduktion der bakteriellen Besiedlung und Adhäsion.

2.2.4 Keramik-Implantate

Im Vergleich zu Titanimplantaten zeigten auch Keramiken wie Aluminiumoxide [KAWAHARA et al., 1980; KOHAL et al., 2003], bioaktives Glas [HENCH et al., 1973; GROSS et al., 1981], Hydroxylapatit [DENISSEN et al., 1983] und mit Keramiken beschichtete Metalle [DENISSEN et al., 1990; AKAGAWA et al., 1990] einen ausreichenden Knochen-Implantatoberflächen-Kontakt. Versuche mit Implantatkeramiken, darunter Aluminiumoxiden und Glaskeramiken (Tübinger Sofortimplantat) [SCHULTE, 1984], zeigten gute Einheileigenschaften zwischen Knochen und Implantat [WHEELER et al., 1998]. Auch Tricalciumphosphat-Keramiken (TCP) und Hydroxylapatit-Keramiken (HA) zeigten diese Einheileigenschaften über eine die Keramik umgebende knochenähnliche Apatitschicht [HING et al., 1999; BENEDITTIS et al., 1999]. Der Verbund von Knochen mit der Materialoberfläche führte wie bei Titan auch bei Aluminiumoxidkeramik zu einer Kontaktosteogenese [WEBER, 2010]. Jedoch zeigten Aluminiumoxid-Implantate eine geringere Biegefestigkeit auf als Titanimplantate und konnten somit den oralen Belastungen nicht standhalten [KOHAL et al., 2003]. TCP- und HA-Keramiken wiesen sogar eine Verbundosteogenese auf [DONATH und KIRSCH, 1986; BURAIMOH, 2007], wobei HA-Keramiken eine mangelhafte Stabilität durch einen schlechten Verbund mit der Titanimplantatoberfläche aufwiesen [WAGNER und AL-NAWAS, 2004] und sich auflösten [HA et al., 2010]. Dentale Keramikimplantate hatten anfänglich schlechte klinische Eigenschaften, so dass Titanimplantate bevorzugt wurden [BUSER und BELSER, 1998]. Jedoch sind diese Schwierigkeiten durch neuere Techniken kompensiert worden [WAGNER und AL-NAWAS, 2004]. Desweiteren wiesen Keramik-Implantate eine verringerte bakterielle Adhäsion und Biofilmdicke auf [RIMONDINI et al., 2002; BUSSCHER et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2013]. Mit der Entwicklung von Implantaten auf Basis des Zirkoniumdioxids könnte in der Zukunft ein Durchbruch in der Anwendung der Keramikimplantate erzielt werden [Z-Implantat[®], VOLZ, 2003]. In einem Vergleich zwischen Titan- und Keramikimplantatmaterialien konnten SCARANO et al. (2004) und RIMONDINI et al. (2002) zeigen, dass sich an Zirkoniumdioxid-Oberflächen geringere Mengen bakteriellen Biofilms ansammeln als an Titan-Oberflächen. Dabei ist die Pathogenität der Kolonisationskeime an Zirkoniumdioxid zusätzlich geringer. [SCARANO et al., 2004; RIMONDINI et al., 2002]

SALIHOGU et al. (2011) untersuchten Zirkoniumdioxid und Titan-Substrate hinsichtlich ihrer Neigung zur Adhäsion mit zwei parodontopathogenen Keimen. Sie fanden keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Sondierungstiefe und den vorhandenen Bakterienspezies (*A.actinomycescomitans*, *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) und den übrigen untersuchten Bakterien) für Titan-Legierungen und Zirkoniumdioxidoberflächen [SALIHOGU et al., 2011]. In Bezug auf die SFE zeigten Zirkoniumdioxidoberflächen eine geringere freie Oberflächenenergie als Titanoberflächen [SALIHOGU et al., 2011]. Die Zirkoniumdioxidoberflächen zeigen damit hydrophobe Oberflächeneigenschaften [REZWAN et al., 2005]. Für die bakterielle Anhaftung ist eine positiv geladene Oberfläche [APILANEZ et al., 1998] und eine hohe freie Energie jedoch förderlich [SCHEIE, 1994].

In neueren Studien zum Zirkoniumdioxid konnte gezeigt werden, dass Zirkoniumdioxid-Implantate mit einer säuregeätzten Oberfläche ein histologisch und ultrastrukturell vergleichbares osseointegratives Verhalten aufwiesen wie Titanimplantate [NOWAK, 2010]. Eine aktuelle Studie von MÜLLER et al. (2011b) zeigte, dass Zirkoniumdioxid-Implantate mit einer durch Zirkoniumdioxidpulver gestrahlten Oberfläche, die eine mittlere Rauheit (R_a) von 1,7 μm aufwies, nach vier Monaten einen höheren Knochen-Implantat-Kontakt (BIC) hatten als Zirkoniumdioxid-Implantate mit glatterer oder rauerer Oberfläche. In dieser Studie wurden keine Unterschiede in der Osseointegration von Titan- und Zirkoniumdioxid-Implantaten gefunden [MÜLLER et al., 2011b]. Eine Literaturübersicht über Zirkonoxid-Implantate kommt zu dem Ergebnis, dass Zirkoniumdioxidimplantate das Potenzial haben, eine Alternative für Titanimplantate darzustellen, jedoch sind sie noch nicht hinreichend in den klinischen Routineeinsatz integriert [ÖZKURT et al., 2011].

2.3 Mikroorganismen

2.3.1 *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*)

S. sanguinis zählt zu den grampositiven Kugelbakterien (Kokken), die sich in Ketten formieren und fakultativ anaerob sind. Sie sind den α -hämolyisierenden Streptokokken zuzuordnen und gehören zur physiologischen Flora des Mund- und Rachenraumes [HOF et al., 2009; HAHN et al., 2009]. Die *Sanguinis*-Gruppe zählt zu den Frühbesiedlern des Pellikels [MARSH und BRADSHAW, 1995; LILJEMARK et al., 1997]. Optimale Kultivierungsbedingungen für *S. sanguinis* liegen in einem pH-Bereich von 7,2 bis 7,8 und einem Temperaturoptimum von 37°C vor [MÜLLER und KREHAN, 2011]. Aus Saccharose bilden *S. sanguinis* lösliche und unlösliche extrazelluläre Glucane (ein Polysaccharidemolekül des D-Glucose-Monomers) [GÄNGLER et al., 2010], die als Matrix des Biofilms bei der Kariogenese eine wichtige Rolle spielen und zudem anderen Bakterien als Lebensraum dienen [HOF et al., 2009]. Streptokokken sind unter anderem bedeutend für die Kariesentstehung [CAUFIELD et al., 1993]. Dabei hüllen sich die Bakterien in die extrazelluläre Polysaccharidschicht (EPS) ein [FREYTAG, 2004]. Die Vernetzung der Bakterien untereinander erfolgt über die EPS [BACH, 2009]. Die adhärenen Moleküle werden auch als Polysaccharid-Interzelluläres-Adhäsine (PIA) bezeichnet [FREYTAG, 2004]. Im zellulären Aufbau gelten F-Proteine als die wichtigsten neuen Adhäsine, die eine Anhaftung an Oberflächen vermitteln [GATERMANN und MIKSITS, 2004]. Neben der Adhäsine-Rezeptor-Bindung kann eine Bindung auch über spezielle Adhäsionsproteine, die Lektine, erfolgen, die dann an Glykanstrukturen (Polysaccharide) des Pellikels adhären [KONDO et al., 1976, MIRTH et al., 1979]. Eine interbakterielle Bindung zwischen *S. mutans* und *S. sanguinis*, den Primärbesiedlern, erfolgt mit Hilfe von adsorbierten Speichelglykoproteinen [LAMONT et al., 1991]. Nach LAMONT et al. (1991) vermittelt das „saliva-agglutinin“ als Speichelglykoprotein die Adhäsion der *mutans*-Streptokokken an die Primärbesiedler. LI et al. (2004a), sowie COWAN et al. (1987) bezeichneten *S. sanguinis* als einen der ersten und bedeutendsten Primärbesiedler. *S. sanguinis* bildet zudem eine Protease mit der es sIgA spaltet, und damit die Wirtsabwehr umgehen kann [LEHNERT und AULITZKY, 2006]. Außerdem bindet sich *S. sanguinis* an Neuraminsäurereste der Kohlenhydratseitenketten von Muzinen des Speichel [NEESER et al., 1995].

Daten von DO et al. (2011) unterstützen die Hypothese, dass *S. sanguinis*-Stämme opportunistische humanpathogene Erreger sind. Zu den Oberflächeneigenschaften zeigten HAUSER-GERSPACH et al. (2007), dass dem Speichel ausgesetzte *S. sanguinis*-Zellen eine hydrophile Natur haben. Ihre Oberfläche ist jedoch nach GRIVET et al. (2000) hydrophob. Weiterhin konnten eine Reihe von Untersuchungen zeigen, dass insbesondere *Actinomyces naeslundii* und Mitis-Gruppen-Streptokokken (*Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus gordonii* und *Streptococcus sanguinis*) auch acidogene und säureausscheidende Eigenschaften haben und fähig sind ein kariogenes Milieu zu schaffen [SOET et al., 2000; SVENSÄTER et al., 2003]. Eine aktuelle in-vivo-Studie mit Stämmen von *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus downei* und *Actinomyces naeslundii* zeigte, dass in der extrazellulären Matrix und an der Basis der Biofilme unterschiedliche pH-Mikroumgebungen gebildet werden, die mehrere Stunden anhalten [SCHLAFER et al., 2011]. Eine aktuelle Studie von GIL et al. (2013) konnte mit *S. sanguinis*-Kulturen eine Lochfraßkorrosion auf Titanimplantatoberflächen feststellen.

2.3.2 *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*)

Staphylokokken gehören zu den unbeweglichen, grampositiven, fakultativ anaeroben Kugelbakterien, wobei *S. epidermidis* zu den koagulase-negativen Spezies zählt und Teil der physiologischen Haut- und Schleimhautflora des Menschen ist [HOF et al., 2009; HAHN et al., 2009]. Das Bakterium gilt als opportunistischer Erreger und besitzt die Fähigkeit Schleim zu produzieren [HOF et al., 2009; HAHN et al., 2009]. Auch wird es mit Implantatinfektionen assoziiert, da es osteolytisch wirksam ist [MEGHJI et al., 1997]. Bereits 1990 wiesen RAMS et al. eine Antibiotikaresistenz von Staphylokokken in einem in-vitro-Versuch nach. KHALIL et al. (2007) suchten Gründe für die antibiotische Therapieresistenz. Sie konnten nachweisen, dass *S. epidermidis* in Knochenzellen eindringen kann, was für den antibiotischen Wirkungsabfall spricht [KHALIL et al., 2007]. Knochenspäne, welche bei Implantation gesammelt und einer anschließenden mikrobiologischen Analyse unterzogen wurden, zeigten hauptsächlich gram-positive Kokken [YOUNG et al., 2001]. Periimplantäre-Läsionen wiesen signifikant höhere Anteile an Staphylokokken auf als Parodontitis- oder Gingivitis-Läsionen, wobei *S. epidermidis* mit 45,8% das häufigste der Staphylokokkenisolate war [RAMS et al., 1990]. Bei mit *S. epidermidis* infizierten Implantaten sind meist nur chirurgische Eingriffe möglich wegen des antibiotischen Wirkungsabfalls [KHALIL et al., 2007]. Bei Untersuchungen von Periimplantitis-Antiseptika zeigte sich, dass Chlorhexidin (CHX) und Listerine gegen *S. epidermidis* unwirksam waren, lediglich Zitronensäure, Plax (eine Mundspüllösung) und Natriumhypochlorid waren wirksam [BÜRGERS et al., 2012].

Polysaccharide interzelluläre Adhäsine (PIA) auf der Zelloberfläche von *S. epidermidis* stellen eine wichtige Biofilm-Matrix-Komponente dar [AARAG et al., 2011]. Zudem konnten einige Oberflächenproteine in der Zellwand der Bakterien identifiziert werden. Ein solches Oberflächenprotein ist das sogenannte *biofilm-associated protein* (Bap), welches sowohl für die primäre Bindung an abiotischen Oberflächen als auch für die interzelluläre Bakterienadhäsion verantwortlich ist. Durch Deletion des Bap-Gens konnte eine verringerte Akkumulation des wichtigsten Staphylokokken-Exopolysaccharids PIA gezeigt werden. Homologe des Bap-Proteins wurden in zahlreichen anderen Staphylokokken-Spezies, unter diesen auch auf der Oberfläche von *S. epidermidis*, nachgewiesen. [TORMO et al., 2005]

AARAG et al. (2011) schlussfolgerten, dass PIA durch die Aktivierung des Komplementsystems, potente pro-inflammatorische Eigenschaften hat, was die Immunantwort des Wirtes auf *S. epidermidis* beeinflussen kann.

FREYTAG (2004) konnte die These, dass Proteinrezeptoren für eine verstärkte Adhärenz verantwortlich sind, stützen. Es wurden Titanprobekörper mit Serumprotein- und Gewebsflüssigkeitsbeschichtungen versehen und mit *S. aureus*- und *S. epidermidis*-Stämmen inkubiert. Er fand heraus, dass Fibronektin und Fibrinogen eine starke Zunahme der Bakterienzellen bewirkt, Albumin die Anzahl an adhärennten Bakterien reduziert und das Kollagen I und II die Adhärenz verstärken, sowie eine Biofilmbildung induzieren. *S. epidermidis* besitzt somit die für eine Kollagenbindung nötigen Adhäsine. [FREYTAG, 2004]

Als ein weiteres wichtiges Biofilmbindungsprotein gilt das *accumulation-associated protein* (Aap) [SCHOMMER, 2010]. Es ist in der Biofilmbildung essentiell für Interaktionen mit *S. epidermidis* Adhäsinen [SCHOMMER, 2010]. Eines dieser Adhäsine ist das AaStrA Adhäsine, ein Oberflächen-assoziiertes Protein mit autoaggregativen Eigenschaften [MICHEL, 2010]. MICHEL (2010) erbrachte den Nachweis für die Interaktion des Aap mit dem Oberflächenprotein AaStrA des Bakteriums *S. epidermidis*. AaStrA hat funktionelle Charakteristika, da es an Fibrinogen und Vitronektin bindet. Durch Zinkionen konnte die Interaktion um das 3-fache gesteigert werden. MICHEL (2010) vermutet, das AaStrA nicht nur in der Akkumulationsphase der Biofilmbildung wichtig ist, sondern auch bei der primären Adhärenz der Bakterien an Oberflächen von funktioneller Bedeutung ist.

3 Fragestellung

Ziel der vorliegenden in-vitro-Untersuchung war es, die initiale Biofilmbildung auf verschiedenen Implantatoberflächen aus Keramik und Titan zu beschreiben und den Einfluss der Rauheit, der Morphologie des Substrats und der freien Oberflächenenergie auf diese bakteriellen Adhäsionsprozesse zu klären. Hierzu wurden Probekörper mit definierten physikalischen Oberflächencharakteristika (Rauheit, Morphologie und freie Oberflächenenergie) hergestellt und mit zwei oralen Keimen (*Streptococcus sanguinis* und *Staphylococcus epidermidis*) inkubiert. Über spezifische Modifikationen der Oberflächeneigenschaften sollen so in Zukunft anti-adhäsive und antimikrobielle Implantatoberflächen generiert werden.

4 Material und Methode

4.1 Material

4.1.1 Mikroorganismen

In allen Versuchen zur Biofilmbildung wurden die Bakterienstämme *Staphylococcus epidermidis* (DSMZ-Nr.1798 Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Deutschland) und *Streptococcus sanguinis* (DSMZ-Nr.20068) verwendet. Sie wurde in Trypticase Soy Yeast Extract Medium [DSMZ-Medium Nr. 92; bestehend aus 30 g tryptischer Soja-Nährbouillon (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, USA) und 3 g Hefeextrakt (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) gelöst in einem Liter Aqua dest.] zur weiteren Verwendung als Wochenkultur kultiviert.

4.1.2 Künstlicher Speichel

Für jeden Bakterienstamm (*S. sanguinis* und *S. epidermidis*) wurden in allen Anlagerungsversuchen die Probekörper mit künstlichem Speichel vorinkubiert. Die verwendete künstliche Speichelmischung, bestehend aus Muzin (850 mg/l PBS), Lysozym (10 µg/ml PBS), α -Amylase (1 mg/ml PBS) und Albumin (40 µg/ml PBS), ist durch das Vakuumeinmalfiltrationsgerät (Vacuflo PV 050/3, Fa. Schleicher & Schuell Microscience GmbH, Dassel, Deutschland) und nachstehende Filter mit einer Porengröße von 0,45 µm und 0,2 µm steril filtriert worden. Diese Mischung wurde einen Tag vor Versuchsbeginn hergestellt. Die Aufbewahrung erfolgte im Kühlschrank bei 4°C. Der dabei verwendete PBS-Puffer wurde selbst hergestellt aus 8 g Natriumchlorid (Fa. VWR), 0,2 g Kaliumchlorid (Fa. VWR), 1,425 g Dinatriumhydrogenphosphat (Fa. VWR) und 0,2 g Kaliumhydrogenphosphat (Fa. VWR), gelöst in 1000 ml *Aqua destillat*.

4.1.3 Probekörper

Zur Untersuchung wurden Reintitan-Plättchen (Mechanische-Werkstatt-Biologie, Universität Regensburg, Germany) mit einem Durchmesser von 6 mm und einer Höhe von 1 mm, sowie Zirkoniumdioxid-Keramik-Plättchen (IPS e.max ZirCAD; Ivoclar Vivadent, Ellwangen, Germany) mit einem Durchmesser von 6 mm und einer Höhe von 1 mm verwendet.

Es kamen zwei Versuchsreihen zur Durchführung (siehe Versuchsdesign). In der ersten Versuchsreihe wurden 60 Probekörper (PK) pro Implantatmaterial hergestellt. Jeweils 20 Probekörper wurden einer bestimmten Oberflächenmorphologie zugewiesen (rau, mittelrau, glatt). Für jede Bakterienspezies ergaben sich somit zehn Probekörper in jeder eingestellten Oberflächenmorphologie (**Abb. 6**). In der zweiten Versuchsreihe wurde die Oberflächenmorphologie mittelrau aus dem Aufbau entfernt. Hundertvier Probekörper wurden für jedes Implantatmaterial hergestellt. Es wurden die Oberflächenmorphologien rau und glatt hergestellt. Danach erfolgte für jede Oberflächenmorphologie die Einstellung der Oberflächeneigenschaft in hydrophil und hydrophob. Für jede Bakterienspezies ergaben sich somit 13 Probekörper. Drei Probekörper wurden zur Kontrolle der eingestellten Hydrophobizitäten mittels Goniometrie überprüft. Diese wurden für die Anlagerungsversuche nicht weiterverwendet (**Abb. 7**).

4.1.4 Fluoreszenzfarbstoff

Der zur Fluoreszenzmessung verwendete Farbstoff war CytoX-Violett (Epigentek Group Inc., NewYork USA). Dieser verwendet eine spezielle Farbstoffzusammensetzung, mit der Viabilität, Proliferation und Zytotoxizität von Zellen in Biofilmen gemessen werden.

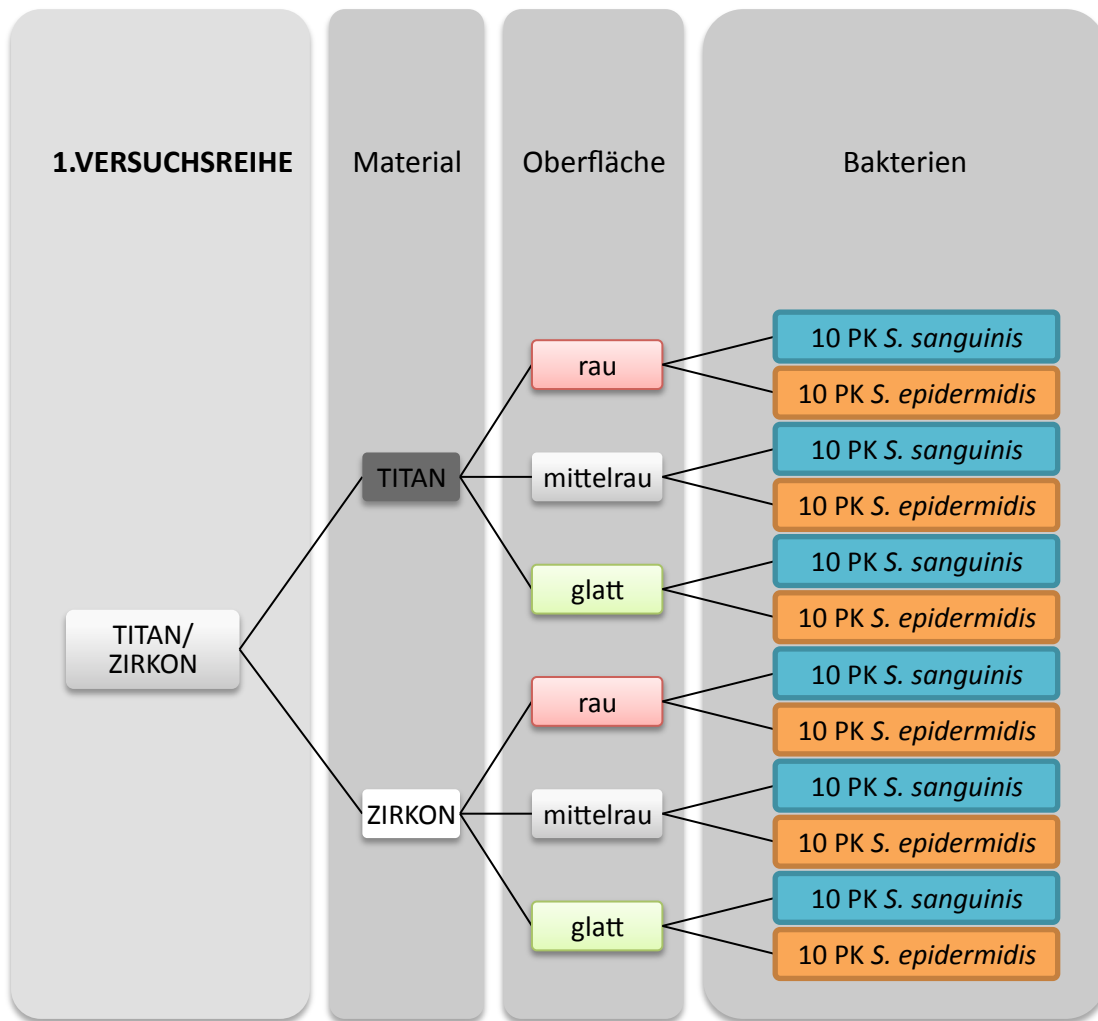


Abb. 4 Erste Versuchsreihe; Material: Titan und Keramik; Oberflächenmorphologie (rot & weiss & grün): rau, mittelrau, glatt; Bakterien (orange & blau): *S. epidermidis* und *S. sanguinis*

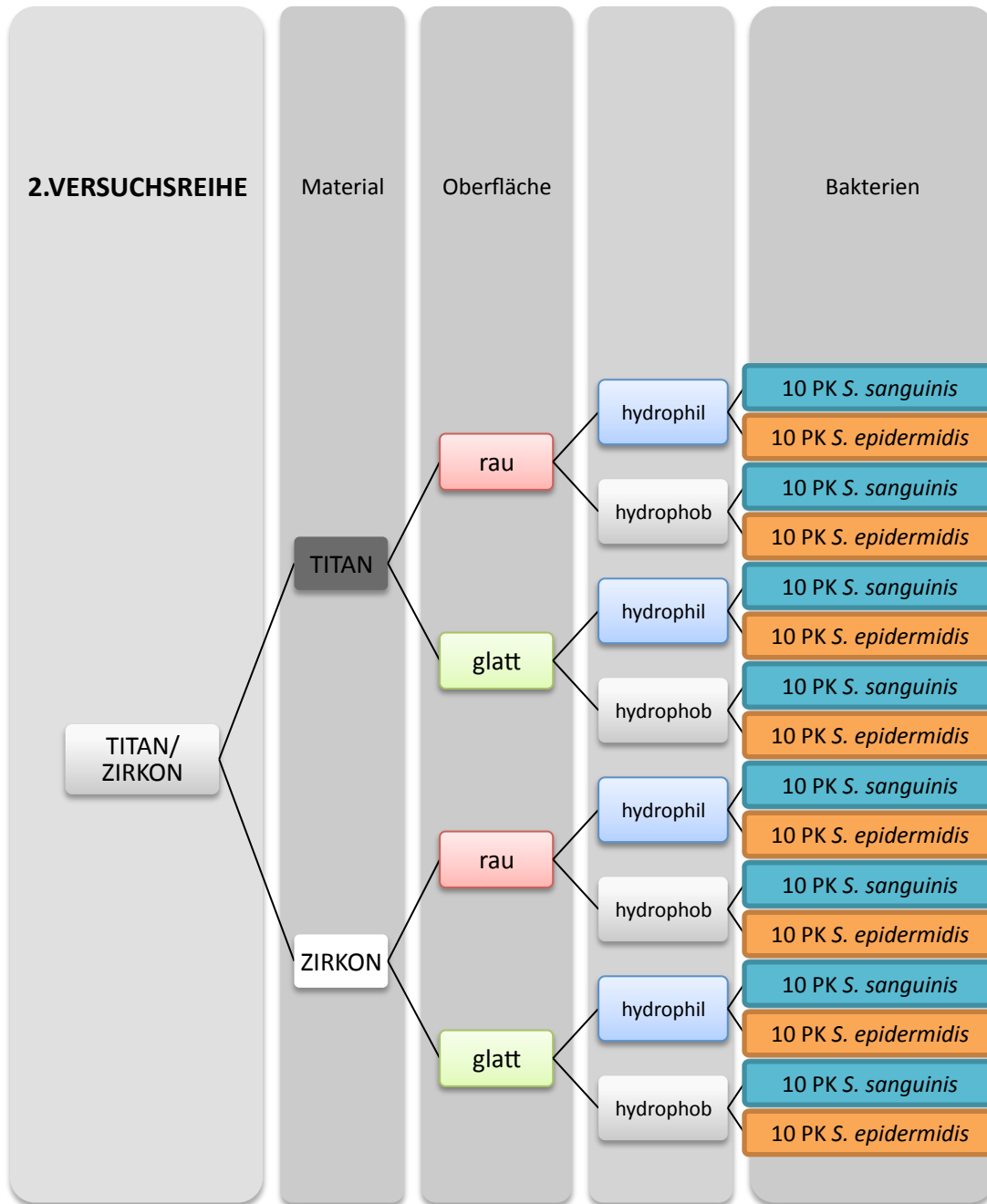


Abb. 5 Zweite Versuchsreihe; Material: *Titan* und *Keramik*; Oberflächenmorphologie (rot & grün): *rau*, *glatt*; Oberflächeneigenschaft (hellgrau & hellblau): *hydrophob* & *hydrophil* Bakterien (orange & blau): *S. epidermidis* und *S. sanguinis*

4.1.5 Geräte und technische Materialien

- **ABSTRAHLGERÄT**
(P-G 400, Harnisch + Rieth GmbH, Deutschland)
- **EPPENDORF REFERENCE® (VARIABEL)-PIPETTEN**
(Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)
- **PIPETTEN-SPITZEN**
(100/1000µl; Sarstedt AG&Co, Nümbrecht, Deutschland)
- **GONIOMETER**
(OCA 15 plus, Dataphysics Instruments, Filderstadt, Deutschland)
- **LOCHSÄGE**
(SP 1600, Leica GmbH, Deutschland)
- **MAGNETRÜHRGERÄTES**
(MSC basic C, IKA Works Inc., Wilmington, NC, USA)
- **MIKROSKOP**
(Carl Zeiss West GmbH, Deutschland)
- **MULTI-DETEKTOR FLUORESCENZ LESEGERÄT**
(Fluostar optima, bmg-Labtech, Offenburg, Deutschland)
- **PERTHOMETER S6P**
(Feinprüf Perten GmbH, Göttingen, Deutschland)
- **PHOTOMETER THERMO SPECTRONIC**
(Genesys 10S; Thermo Spectronic, Rochester, NY, USA)
- **pH-METER**
(Microprozessor-pH-Meter 764, Knick & Co. GmbH, Berlin, Deutschland)
- **PIPETTEN DES GONIOMETERS**
(Mircolab RP, Hamilton, USA)
- **RASTERKRAFTMIKROSKOPS**
(VEECO Instruments Inc., Vermont Californien, USA)
- **REAGENZGLAS**
(Schott Gläser, Mainz, Deutschland)
- **SCHÜTTELINKUBATOR G 25**
(New Brunswick Scientific Co.Inc, New Jersey, USA)
- **SILIKON DOSIERGERÄT**
(DG 1, Degussa AG, Deutschland)
- **STERILBANK HERASAFE**
(Heraeus, Hanau, Deutschland)
- **WELL ZELLKULTURPLATTEN**
(Corning Inc. New York, USA)
- **ZENTRIFUGE ROTIXA/P**
(Hettich, Tuttlingen, Deutschland)
- **ZENTRIFUGENRÖHRCHEN 10ML**
(Becton Dickinson Microbiology Systems, New York, USA)

4.2 Methode

4.2.1 Versuchsvorbereitung

4.2.1.1 Herstellung und Charakterisierung der Implantatprobekörper

Die Probekörper aus Keramik wurden aus Keramikrohlingsen (IPS e.max ZirCAD, Yttrium-stabilisiertes Zirkoniumdioxid) (Ivoclar Vivadent, Ellwangen, Germany) mit Hilfe einer Diamant-Innenlochsäge (Leica Sp 1600, Leica, Germany **Abb. 6-6a**) unter permanenter Wasserkühlung auf 1 mm hohe Probekörper abgelängt. Danach erfolgte die Modifikation der Oberflächen. Alle Probekörperoberflächen wurden primär auf Hochglanz poliert. Dies erfolgte an der Poliermaschine (Motopol 8; Buehler, Düsseldorf, Germany) und sukzessiv mit Nass-Schleifpapier der Körnung 500, 1000, 2000 und 4000. Die Rauheit wurde im Anschluss mittels Perthometer S6P (Feinprüf Perten GmbH, Göttingen, Deutschland) bestimmt. Es wurden nur Probekörper weiterverwendet, bei denen eine mittlere Rauheit (R_a) von unter $0,2 \mu\text{m}$ gemessen wurde. Die weiteren Rauheiten wurden mittels Sandstrahlen mit $50 \mu\text{m}$ (mittelrau) und $250 \mu\text{m}$ (rau) Aluminiumoxid, bei 2.5 bar und für 20 sec. (beide: Korox, Bego, Bremen, Germany) hergestellt. Im Anschluss erfolgte auch hier eine Perthometermessung zur Dokumentation der Oberflächenrauheit.



Abb. 6 Lochsäge Leica

Zuschnitt
Bildmaterial)

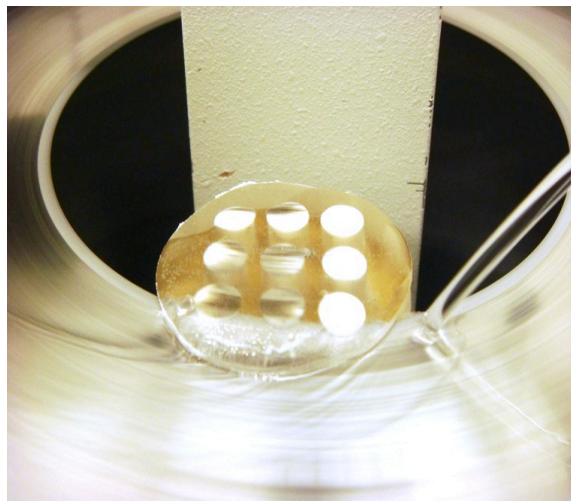


Abb. 6a Zirkoniumdioxid Probekörper im
(eigenes

4.2.1.1.1 Perthometermessung (Oberflächenrauheit, R_a)

Mit der Perthometermessung am Perthometer S6P (Feinprüf Perten GmbH, Göttingen, Deutschland) wurde die Oberflächenrauheit gemessen. Die Probekörper wurden mittels Knetmasse auf einer Haltevorrichtung fixiert und durch Antrieb mit dem Tastschlitten abgefahren. Die Messungen erfolgten jeweils an drei Stellen. Die Abtaststrecke betrug 1,7 mm, wobei die Einzelmessstrecke 0,25 mm umfasste, die Parameter für die Vertikale und Horizontale betragen jeweils 50 μm . Für die als glatt eingestuften Plättchen mussten bei allen drei willkürlichen Messstellen die drei Rauheitswerte unter 0,2 μm liegen und konnten somit gemäß ALBREKTSSON und WENNERBERG (2004), als „glatt“ bezeichnet werden. Eine Objektivierung der rauen und mittelrauen Oberflächen erfolgte analog.

Im zweiten Teil der Untersuchung wurden die Werte für die freie Oberflächenenergie auf den rauen und glatten Probekörperoberflächen modifiziert. Es wurden hydrophobe Oberflächen durch die Applikation von *n-Propyl-Triethoxysilane* (ABCR, Karlsruhe, Germany) und hydrophile Oberflächen, durch die Applikation von *3-Amino-Propyltriethoxysilane* (Flurka, Oberhaching, Germany) generiert. In beiden Fällen wurden die Silane in einer Mischung aus Ethanol (70%) und *Aqua destillat* (1:1) gelöst. Die Probekörper wurden in dieser Lösung über Nacht und unter vorsichtigem Rühren belassen. Es folgte eine Waschung mit einer Mischung aus Ethanol/*Aqua destillat* (1:1) für zwei Stunden, eine zweite Waschung mit *Aqua destillat* für eine Stunde und die abschließende Trocknung an der Luft.

4.2.1.1.2 Goniometrie (freie Oberflächenenergie, Surface free energy, SFE)

Die Prüfung der freien Oberflächenenergie erfolgte mit der Methode der automatisierten Kontaktwinkelmessung. Dazu wurde ein Mikroskop für goniometrische Messungen (OCA 15 plus, Dataphysics Instruments, Filderstadt, Deutschland) verwendet. Jeweils drei Plättchen jeden Materials, jeder Oberfläche und jeder Bakterienanlagerung wurden ausgewertet. Die Probekörper wurden auf dem Probenstisch des Goniometers platziert, mit Testflüssigkeiten benetzt und anschließend elektronisch durch ein Schwarz-Weiß-Bild weiterverarbeitet. Dabei wurde der sich bildende Kontaktwinkel gemessen. Es wurden drei

unterschiedliche Testflüssigkeiten, entionisiertes Wasser, Ethylenglykol (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) und Methylenjodid (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA) mit bekannter Oberflächenspannung sowie bekannten dispersen und polaren Anteilen der Oberflächenspannung zur Bestimmung verwendet und deren Applikation mit Hilfe einer automatischen Glaspipette (Microlap, Hamilton Bondaduz, Schweiz) und einem definierten Volumen von 0,2 µl pro Tropfen auf die Probe pipettiert (pro Probekörper drei Tropfen einer jeden Flüssigkeit). Der linke und rechte Kontaktwinkel jedes positionierten Tropfens wurde nach genau 15 sec. gemessen. Aus den Kontaktwinkeln aller drei Flüssigkeiten wurde die Grenzflächenenergie (SFE) in (mJ/m²) gemäß der Methode von Owens-Wendt-Rabel-Kaelble (OWRK) [BÜRGERS et al., 2010a+b; OWENS et al, 1969] berechnet.

4.2.1.1.3 Rasterkraftmikroskopie (AFM; Atomic Force Mircoscopy)

Zur Bestimmung der Oberflächenmorphologie wurden dreidimensionale Bilder von allen Implantatoberflächen mittels Rasterkraftmikroskopie (AFM) im Tapping-Modus Scan eines Rasterkraftmikroskops (VEECO Instruments Inc., Fermont Californien, USA) durchgeführt. Es wurden drei ausgewählte Bereiche auf den Implantatoberflächen gescannt. Die eingestellten Messfenster betrugen entweder 3 µm x 3 µm oder 30 µm x 30 µm für jedes Testmaterial. Vor der Rasterkraftauswertung wurden alle Titan-und Keramikproben für eine Stunde mit UV-Licht sterilisiert.

4.2.1.2 Bakterienanzucht

4.2.1.2.1 Wochenkultur

In den Versuchen wurden die Bakterienstämme *S. epidermidis* und *S. sanguinis* als Wochenkulturen aus einer Gefrierkultur kultiviert. 10 ml des entsprechenden Nährmedium Trypticase Soy Yeast Extract Medium Nr. 92 wurden mit jeweils 10 µl Bakterienkultur in einem Reagenzglas (Schott Gläser, Mainz, Deutschland) beimpft. Die anschließende Anzucht erfolgte für 17 h bei 37°C im Inkubator (Forma Orbital Shaker, Thermo Electron Corp., Marietta, OH, USA).

4.2.1.2.2 Versuchskultur

Die für die Versuche benötigten Versuchskulturen wurden jeweils aus den entsprechenden Wochenkulturen am Tag vor den Anlagerungsversuchen angezüchtet. Das Wachstum der Bakterien wurde durch das Mikroskop (Carl Zeiss West GmbH, Deutschland) überprüft. Für jeden Bakterienstamm wurde ein Erlenmeyerkolben (Schott Glas, Mainz, Deutschland) mit 50 ml Trypticase Soy Yeast Extract Medium und mit 50 µl der entsprechenden Wochenkultur befüllt. Die im Anschluss erfolgte Inkubation der überimpften Erlenmeyerkolben fand für 17 h bei 37°C im Inkubator statt (Forma Orbital Shaker, Thermo Electron Corp., Marietta, OH, USA).

4.2.1.2.3 Wellplattenkultur

Die am Vortag hergestellten Versuchskulturen wurden aus den Erlenmeyerkolben in Zentrifugenröhrchen (50 ml Tube, Fa. Corning GmbH, Kaiserslautern, Deutschland) übertragen. Der pH-Wert (Multi-Calimatic, Knick, Egelsbach, Deutschland) wurde überprüft und auch das Wachstum der Bakterien wurde mikroskopisch (Carl Zeiss West GmbH, Deutschland) kontrolliert. Es folgte die Abzentrifugation der Wellplattenkulturen (Einstellungen: 18°C, Bremse 9, 2300 U/min, 5 t/min) in der Zentrifuge (Hettich Rotixa P, Hettich Zentrifugen GmbH, Tuttlingen, Deutschland). Der am Boden des Falcon-Tube entstandene Bakterienpellet und der Flüssigkeitsüberstand wurden aufgetrennt, indem die Flüssigkeit vorsichtig abgeschüttet wurde. Das Bakterienpellet wurde in 30 ml des selbst hergestellten PBS-Puffers (Phosphate Buffered Saline) vollständig gelöst.

Es folgte ein weiteres Zentrifugieren. Die 1. Waschung wurde wiederholt. Nach der 2. Waschung wurde das Bakterienpellet wiederum in 30 ml PBS vollständig gelöst und in ein steriles Becherglas mit Rührmagneten überführt. Die Lösung wurde gleichmäßig durchmischt mit Hilfe des Magnetrührgerätes (MSC basic C, IKA Works Inc., Wilmington, NC, USA). Diese Lösungen wurden so lange verdünnt bis die optische Dichte im Photometer Thermo spectronic (Genesys 10S; Thermo Spectronic, Rochester, NY, USA) bei vorliegender Wellenlänge von 500 nm einer Optischen Dichte nach MacFarland (OD) von 0,4 entsprach. Dabei wurde eine bakterielle Konzentration von etwa 5×10^9 KBE (Kolonie bildende Einheiten) / ml erreicht. Der PBS-Puffer wurde als Referenz-Nullwert verwendet.

4.2.2 Versuchsdurchführung

4.2.2.1 Versuchsdesign

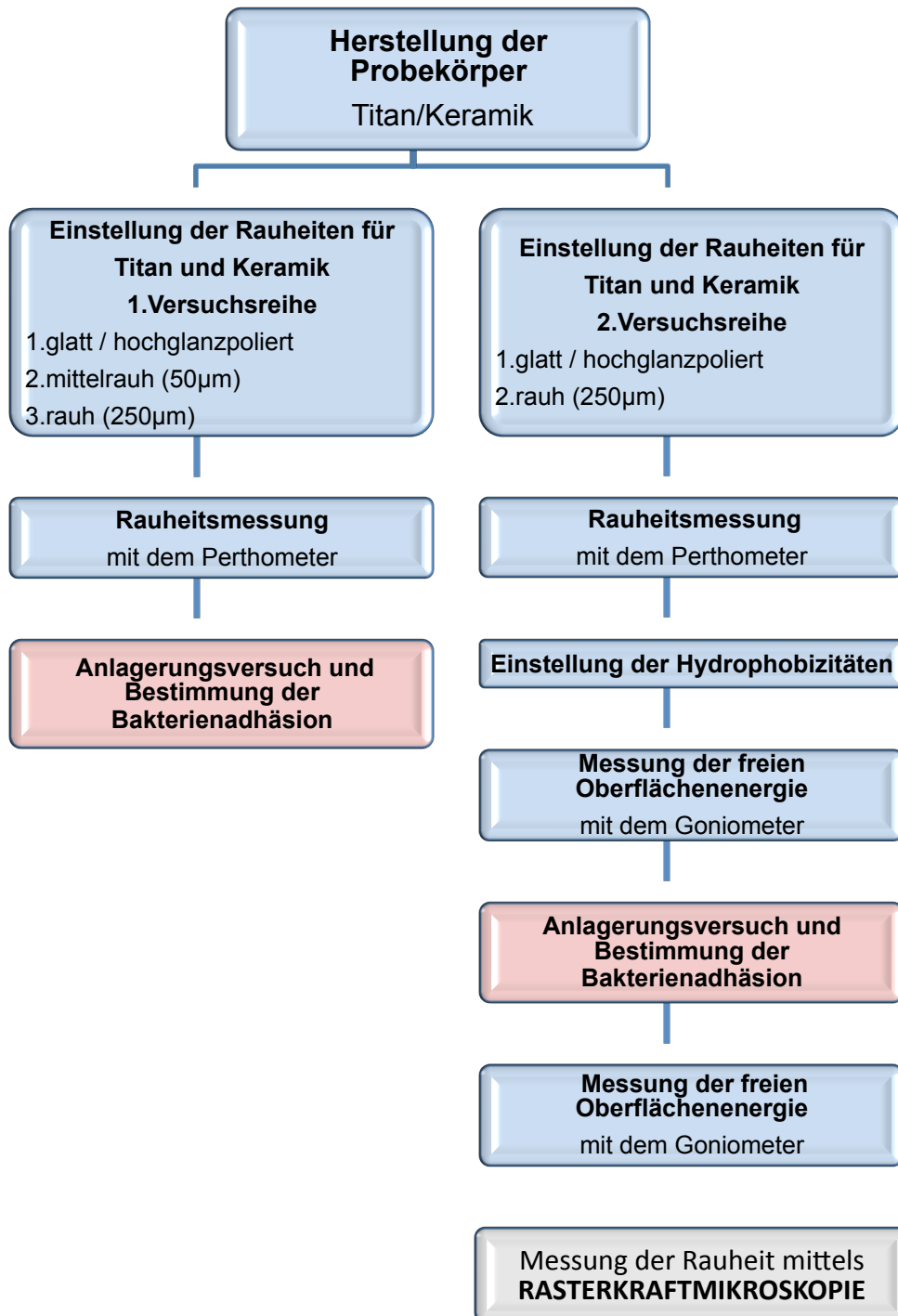


Abb. 7 Versuchsdesign

4.2.2.2 Überblick des Versuchsablaufes

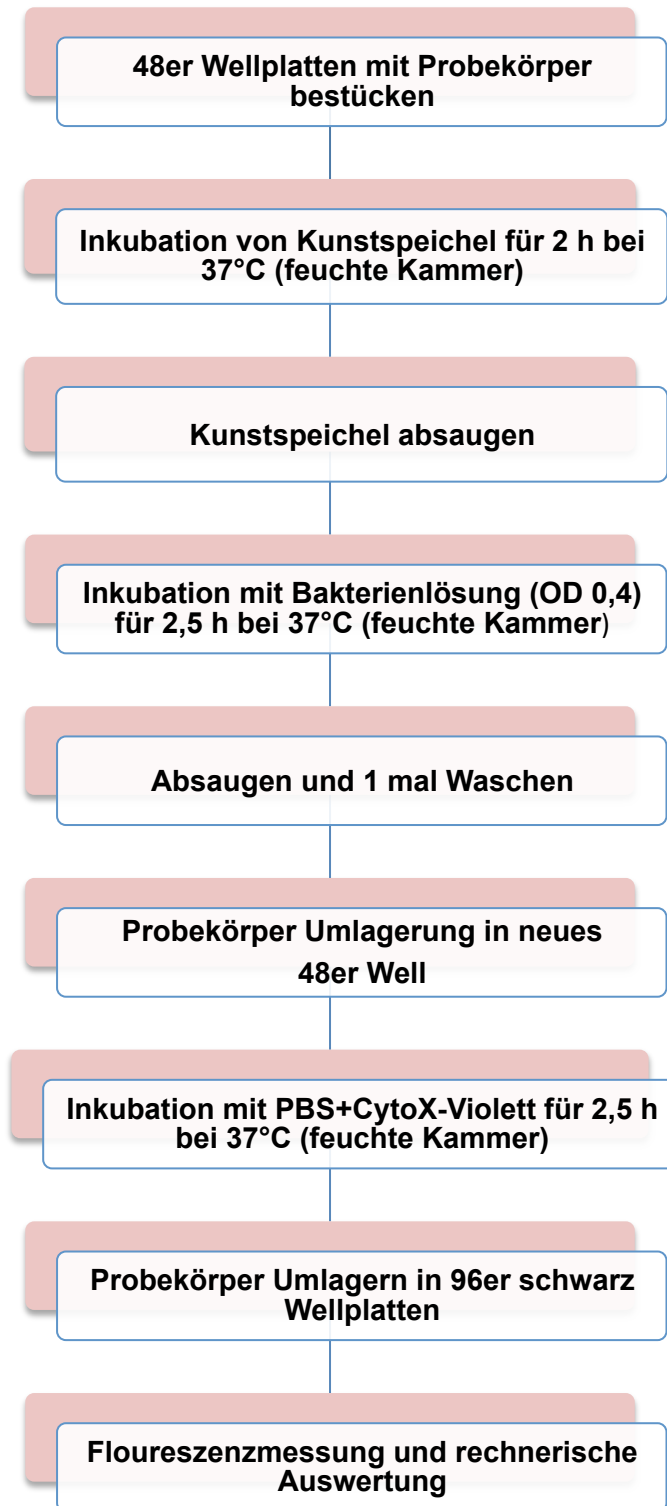


Abb. 8 Versuchsablauf

4.2.2.3 Versuchsvorbereitung

4.2.2.3.1 Wellplattenbestückung

Einen Tag vor Versuchsbeginn werden die hergestellten Probekörper mit 70%igem Ethanol gewaschen, dampfgestrahlt und in 48er Wellplatten (Culture Cluster, Corning Inc., Lowell, MA, USA) mittels Dubliersilikon (Deguform, DeguDent, Hanau, Deutschland) fixiert. Jeweils 1 ml steriles *Aqua destillat* kam in jede Wellkammer und die anschließende Lagerung bis zum Versuchsbeginn erfolgte im Kühlschrank bei 4°C.

In der 2. Versuchsreihe wurden die Plättchen mit 70%igem Ethanol gewaschen und im Anschluss dampfgestrahlt. Nach der Einstellung der hydrophilen und hydrophoben Oberflächen wurden die Probekörper mit Dubliersilikon in den Wellplatten fixiert. Jeweils mit 1 ml sterilem *Aqua destillat* wurden diese Wellkammern befüllt und im Kühlschrank bei 4°C gelagert.

4.2.2.3.2 Goniometrie

Die für die 2. Versuchsreihe extern hergestellten Oberflächen wurden vor Versuchsbeginn der Goniometrie unterzogen. Hierzu wurden drei Probekörper eines jeden Materials, jeder Bakterienkultur und jeder eingestellten Oberfläche goniometrisch untersucht. Diese Probekörper wurden nicht zur Anlagerung weiterverwendet. Es sollte lediglich die eingestellte Oberfläche bestätigen.

4.2.2.4 Versuch (Abb. 7 und Abb. 8)

Am Tag des Versuches wurden die Wellplatten aus dem Kühlschrank entnommen. Das *Aqua destillat* wurde aus den 48 Wellkammern abgesaugt. In jede Kammer wurden 1 ml Kunstspeichel pipettiert (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) um den Einfluss eines Speichel-Häutchens zu simulieren. Die geschlossenen Wellplatten wurden in einer feuchten, lichtundurchlässigen Box aufbewahrt und für zwei Stunden bei 37°C und mit 60 U/min im Schüttelinkubator G 25 (New Brunswick Scientific Co.Inc, New Jersey, USA) inkubiert. Nach Inkubation wurde der Kunstspeichel abgesaugt und somit die Wellplatten für die Bakterienanlagerung vorbereitet.

4.2.2.4.1 Anlagerung der Bakterien

Es erfolgte die Befüllung der 10 Wellkammern mit 1 ml Bakterienlösung der Wellplattenkultur, die mit einer OD von 0,4 eingestellt wurden, wobei die jeweiligen Null-Kontrollkammern nur mit PBS-Puffer und die jeweiligen zwei Farb-Kontrollkammern mit PBS-Puffer und CytoX-Violett-Farbstoff befüllt wurden. Wieder wurde inkubiert, für zweieinhalb Stunden, schüttelnd mit 60 U/min, abgedunkelt und in feuchter Box bei 37°C. Danach wurden die Kammern abgesaugt, jeweils mit 1 ml PBS-Puffer „gewaschen“ und erneut abgesaugt, um nicht adhärenente Bakterien zu entfernen. Es folgte eine sehr vorsichtige Umlagerung der Probekörper in neue 48er Wellplatten per Pinzette. Das Dubliersilikon wurde entfernt.

In die jeweiligen Wellkammern wurden 200 µl PBS und 20 µl CytoX-Violett CELL Proliferation Kit (Fa.Bio Cat, Heidelberg, Deutschland) pipettiert. Anschließend wurden die geschlossenen Wellplatten für zweieinhalb Stunden, schüttelnd mit 60 U/min, abgedunkelt und in feuchter Box, bei 37°C inkubiert.

4.2.2.5 Versuchsauswertung

4.2.2.5.1 Fluoreszenzmessungen

Nach der letzten Inkubation wurden 190 µl aus jeder Wellkammer abpipettiert und in eine schwarze 96er Wellplatte überführt. Die umgesetzten Farbstoffmengen und die sich daraus ergebenden Fluoreszenzwerte quantifizieren die Bakterienadhäsion auf den einzelnen Probekörpern. Hohe relative Fluoreszenzintensitäten (RFI) zeigen eine hohe Anzahl von haftenden, lebensfähigen Bakterien. Die Fluoreszenz wurde mit dem Fluoreszenzmessgerät (FLUOstar Optima; BMG LabTech, Offenburg, Deutschland) bei einer Anregungswellenlänge von 560 nm und einer Emissionswellenlänge von 590 nm gemessen. Die Messparameter sind der **Tab. 2** zu entnehmen.

96er Wellplatten	
Ausgewähltes Protokoll	
Gain	2000
Required Value	15%
Emissionsfilter	590-610
Excitationsfilter	560
Microplate	Nunc F96 Microwell 96
Well scanning	None

Tab. 2 Messparameter der Fluoreszenzmessung

Die Datenerfassung erfolgte über die Tabellenkalkulationssoftware EXCEL (EXCEL Version 5.0, Microsoft, USA). Die Fluoreszenzen von Nullkontrolle (O), Bakterienkontrolle (BK) und Farbstoffkontrolle (FK) wurden als Kontrollreferenzen herangezogen.

4.2.2.5.2 Statistische Analyse

Alle Berechnungen und grafische Darstellungen wurden mit SPSS 19.0 für Windows (SPSS Inc., Chicago, USA) durchgeführt.

Mittelwerte und Standardabweichungen für Rauheiten (R_a), Kontaktwinkel und relative Fluoreszenz Intensitäten (RFI) wurden berechnet. Die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) wurde benutzt um den Einfluss von Rauheit (R_a) und Hydrophobizität für die Adhärenz von *S. epidermidis* und *S. sanguinis* auf den Titan- und Keramik-Proben zu analysieren. Der multiple Vergleichstest nach

Tukey-Kramer wurde für die Post-hoc Analyse angewendet, dabei liegt das Testniveau bei 5%. Das statistische Signifikanzniveau wurde bei $p \leq 0,05$ festgelegt.

5 Ergebnisse

5.1 Charakterisierung der Implantatmaterialien

5.1.1 Rauheiten

Von den hergestellten Oberflächen, wie unter 4.2.1.1 beschrieben, wurden die mittleren Rauheiten (R_a) mittels Tastschnittverfahren (Perthometer) gemessen. Die errechneten Mittelwerte und Standardabweichungen sind in Tabelle 3 (**Tab. 3**) aufgelistet.

Eine statistische Signifikanz konnte für die Werte der keramisch rauhen, mittelrauen und glatten Implantatoberflächen festgestellt werden. Ebenso waren die rauhen, mittelrauen und glatten Titan-Oberflächenrauheitswerte untereinander statistisch signifikant unterschiedlich ($p < 0,01$ für alle Vergleiche).

Implantatmaterial	Rauheit	R_a [μm]	Hydrophibizität	Kontaktwinkel[°]
Keramik	Rau	1.32 ± 0.10	Hydrophob	83.6 ± 2.0
			Hydrophil	47.3 ± 2.4
	Mittelrau	0.49 ± 0.03	-	60.7 ± 2.6
	Glatt	0.05 ± 0.02	Hydrophob	72.0 ± 10.5
			Hydrophil	41.4 ± 2.5
	Titan	Rau	2.98 ± 0.31	Hydrophob
Hydrophil				76.2 ± 1.9
Mittelrau		0.83 ± 0.06	-	86.1 ± 3.0
Glatt		0.09 ± 0.02	Hydrophob	96.8 ± 2.8
			Hydrophil	65.2 ± 2.3

Tab. 3 Arithmetisches Mittel der Rauheit R_a (Mittelwerte & Standardabweichungen; [μm]) und Kontaktwinkel (Mittelwerte & Standardabweichungen; [°]) der getesteten Implantat-Materialien.

Dabei war die Rauheit der Keramikprobekörper deutlich niedriger als die Rauheit von rauhen und mittelrauen Titanprobekörpern ($p < 0,01$ für beide Vergleiche). Zwischen glatten Titan- und glatten Keramikprobekörpern konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p = 0,983$).

5.1.2 Freie Oberflächenenergie (surface free energy, SFE)

Die mittleren Kontaktwinkel jeder Probe sind ebenfalls in (**Tab. 3**) angegeben. Alle vier hydrophoben Oberflächen zeigten signifikant höhere Kontaktwinkelmesswerte als die entsprechend hydrophilen Oberflächen ($p < 0,05$ für alle entsprechenden Vergleiche).

5.1.3 Rasterkraftmikroskop (AFM)

Beispiele der rasterkraftmikroskopischen Aufnahmen sind in **Abb. 9a-d** ($30 \mu\text{m} \times 30 \mu\text{m} = 900 \mu\text{m}^2$ Scan-Bereich) und in **Abb. 9e-h** ($3 \mu\text{m} \times 3 \mu\text{m} = 9 \mu\text{m}^2$ Scan-Bereich) dargestellt. Es wurden die Scan-Bereiche $900 \mu\text{m}^2$ und $9 \mu\text{m}^2$ ausgewählt.

Eine grafische Übersicht des Oberflächen-Profil-Scans zeigen **Abb. 10a-b**

Die rasterkraftmikroskopischen Aufnahmen ergaben hohe Rauheitswerte von sandgestrahlten im Gegensatz zu polierten Keramik- und Titanoberflächen. Die Aufnahmen bestätigten damit die Ergebnisse der Rauheitsmessungen mittels Tastschnittverfahren (Perthometer). Jedoch konnte die Mikrostruktur wesentlich detaillierter aufgelöst und dargestellt werden.

Bei Betrachtung des $9 \mu\text{m}^2$ Scanbereichs zeigten raue Titanoberflächen eine wesentlich unregelmäßigere Mikrostruktur im Vergleich zur rauen Keramikoberfläche und zu den beiden glatten Materialoberflächen (**Abb. 10b**). Weiterhin wurden kleine Rillen (im Durchmesser etwa $0,5 \mu\text{m}$ und $0,08 \mu\text{m}$ in der Höhe) auf der glatten Keramikoberfläche (**Abb. 9f**) beobachtet. Die glatten Titanoberflächen schienen völlig eben zu sein (**Abb. 9h**).

Bei Betrachtung des $900 \mu\text{m}^2$ Scanbereichs konnten keine eindeutigen Unterschiede zwischen Keramik und Titan, weder für glatte noch für raue Proben, aufgezeigt werden (**Abb. 10a**).

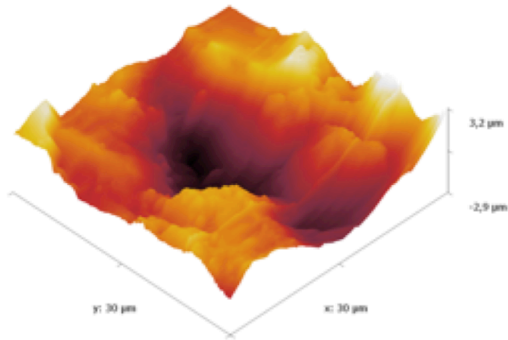


Abb.a (30 µm x 30 µm) *Keramik rau*

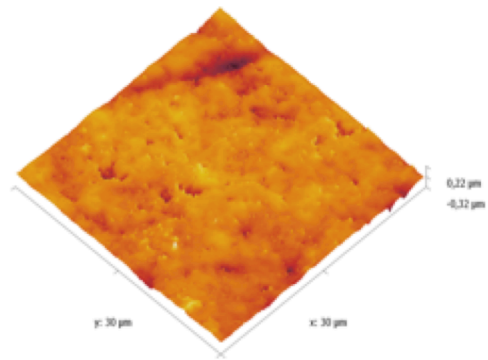


Abb.b (30 µm x 30 µm) *Keramik glatt*

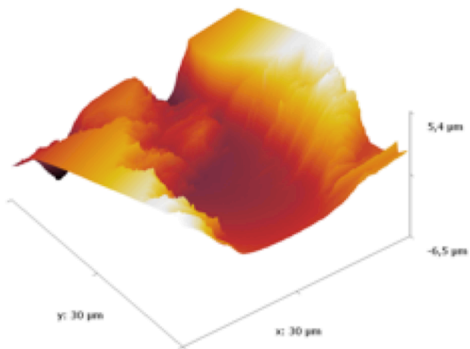


Abb.c (30 µm x 30 µm) *Titan rau*

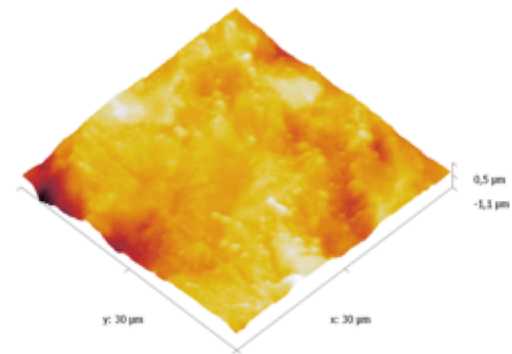


Abb.d (30 µm x 30 µm) *Titan glatt*

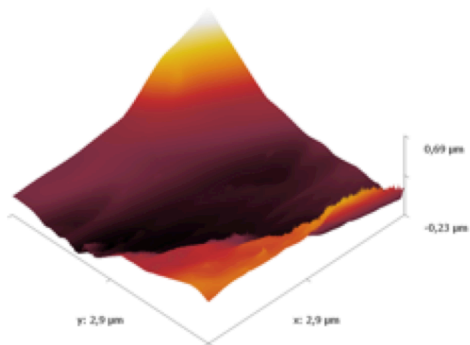


Abb.e (3 µm x 3 µm) *Keramik rau*

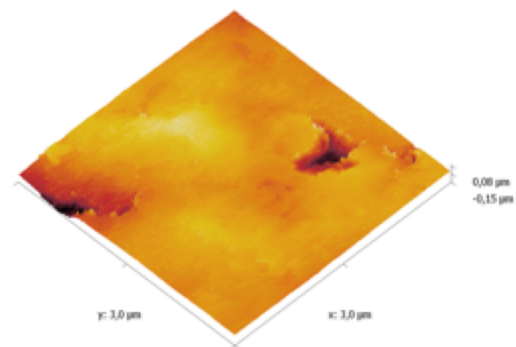


Abb.f (3 µm x 3 µm) *Keramik glatt*

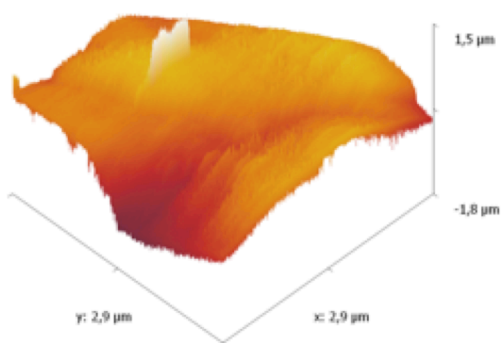


Abb.g (3 µm x 3 µm) *Titan rau*

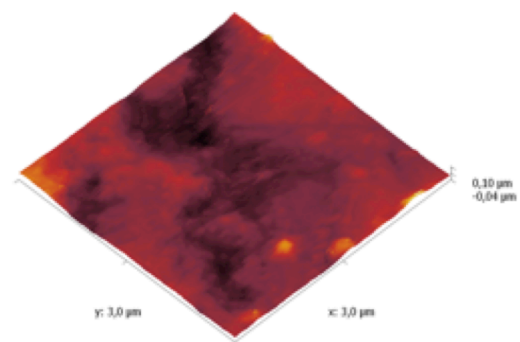


Abb.h (3 µm x 3 µm) *Titan glatt*

Abb. 9 Rasterkraftmikroskopische-Aufnahmen (AFM)

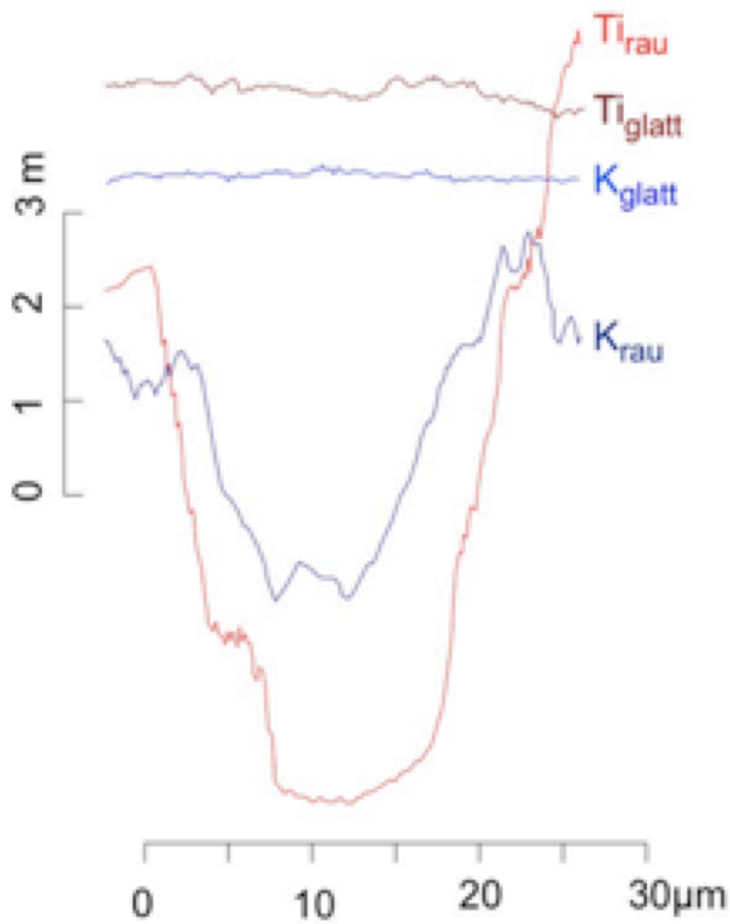


Abb. 10a Vergleich der AFM-Oberflächen-Profile zwischen rauher Keramik (K_{Rau}), glatter Keramik (K_{glatt}), rauem Titan (Ti_{Rau}) und glattem Titan (Ti_{glatt}); Scanauflösung 30 µm.

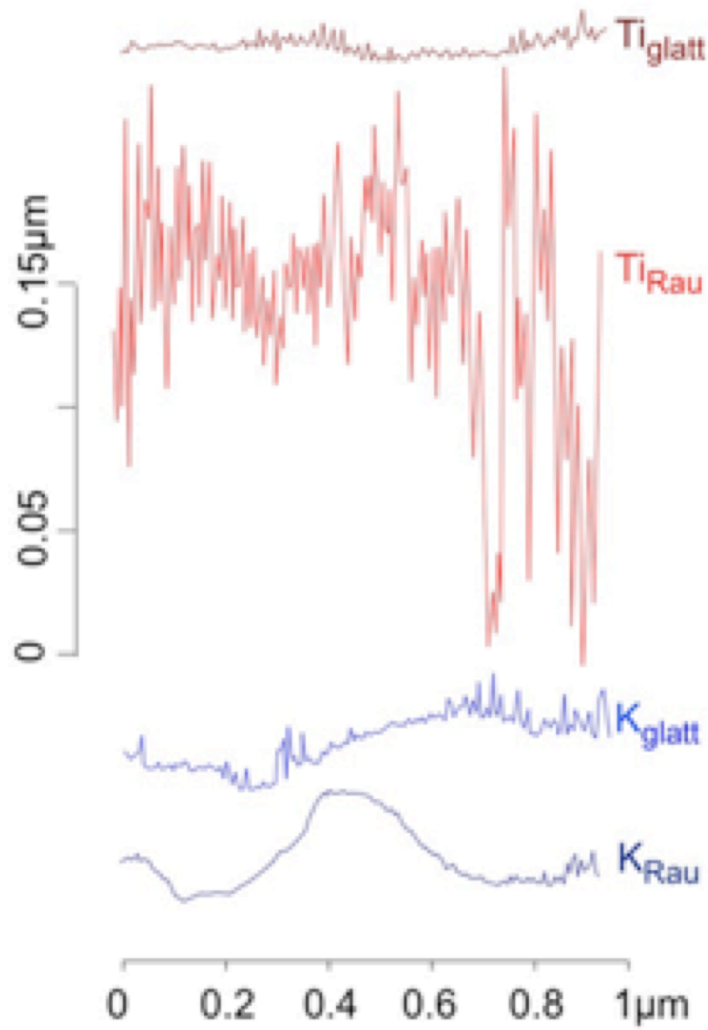


Abb. 10b Vergleich der AFM-Oberflächen-Profile zwischen rauher Keramik (K_{Rau}), glatter Keramik (K_{glatt}), rauem Titan (Ti_{Rau}) und glattem Titan (Ti_{glatt}); Scanauflösung 1 μm .

5.2 Initiale Biofilmbildung

5.2.1 Einfluss der Oberflächenrauheit (1. Versuchsreihe)

5.2.1.1 *Staphylococcus epidermidis*

Um die Menge der adhärenenten Bakterienzellen an der Oberfläche zu bestimmen wurde die relative Fluoreszenzintensität (relative fluorescence intensities; rfi) gemessen. Die Einheit wird angegeben in [rfu] (relative fluorescence unit).

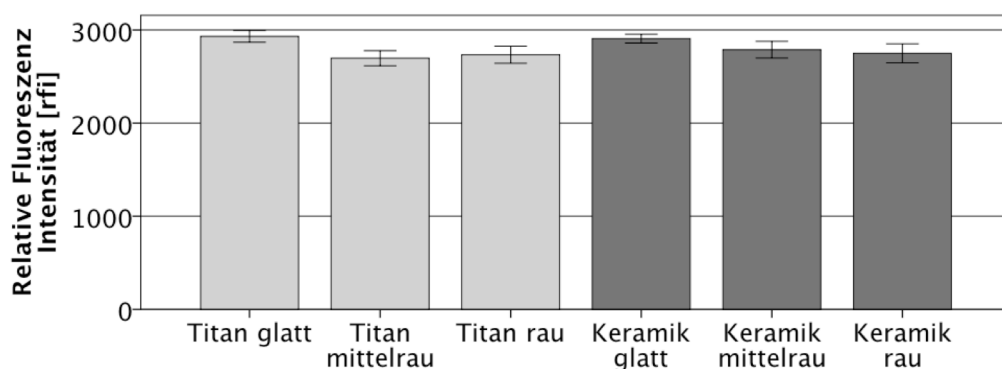


Abb. 11a Relative Fluoreszenz Intensitäten [rfi] von *S. epidermidis* auf Titan- und Keramik-Implantat-Oberflächen mit verschiedenen Graden der Rauheit (Mittelwerte und Standardabweichungen).

Bei Betrachtung der Auswertung (**Abb. 11a**) von *S. epidermidis* liegen die Mittelwerte der relativen Fluoreszenzintensität für alle sechs getesteten Oberflächen in einem engen Intervall zwischen 2697 und 2931 rfu. Sowohl bei den Titanproben als auch bei den Keramikkörpern adhärten tendenziell an den glatten Oberflächen mehr Bakterien als an den rauen.

Die gemessenen Werte (siehe **Tab. 4**) auf Titan lagen bei den glatten Oberflächen bei 2931 ± 99 rfu, bei den mittelrauen bei 2697 ± 127 rfu und bei den rauen bei 2734 ± 145 rfu. Bei dem Vergleich der mittelrauen und rauen Titankörper konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p=0,987$). Wohingegen diese beiden Oberflächen in Bezug auf die glatten Titanproben einen signifikanten Unterschied aufwiesen (zwischen mittelrau und glatt $p=0,02$; zwischen rau und glatt $p=0,014$).

Die Werte der keramischen Probekörper lagen für glatt bei 2908 ± 74 rfu, für mittelrau bei 2789 ± 143 rfu und für rau bei 2749 ± 162 rfu. Ein statistisch signifikanter Unterschied ließ sich nicht feststellen, lediglich die Tendenz von glatt zu rau war abfallend.

		Epidermidis			Titan			Keramik		
		glatt	mittelrau	rau	glatt	mittelrau	rau	glatt	mittelrau	rau
T I T A N	glatt		0,002	0,014	0,999	0,147	0,029			
	mittelrau	0,002		0,987	0,007	0,605	0,940			
	rau	0,014	0,987		0,042	0,932	1,000			
K E R A M I K	glatt	0,999	0,007	0,042		0,314	0,081			
	mittelrau	0,147	0,605	0,932	0,314		0,984			
	rau	0,029	0,940	1,000	0,081	0,984				

Tab. 4 Statistische Analyse (Signifikanzwerte) der Oberflächenrauheit und der Relativen Fluoreszenz Intensität für *S. epidermidis* (Einfaktorielle ANOVA mit $\alpha=0,05$)

5.2.1.2 *Streptococcus sanguinis*

Bei Betrachtung der Auswertung (**Abb. 11b**) von *S. sanguinis* waren die Mittelwerte der rfi für alle Titanproben niedriger als die Werte für Keramik. Die Tendenz von glatt nach rau war jeweils steigend. Die Anlagerungswerte für Titan glatt waren im Vergleich zu allen drei Keramikwerten statistisch signifikant geringer. Für Titan mittelrau und rau ließ sich ein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich mit Keramik mittelrau und rau feststellen.

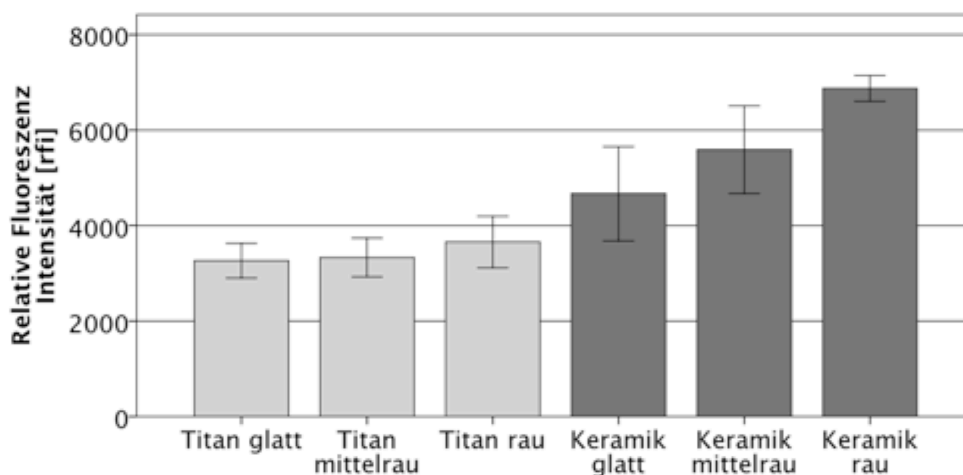


Abb. 11b Relative Fluoreszenzintensitäten [rfi] von *S. sanguinis* auf Titan- und Keramik-Implantat-Oberflächen mit verschiedenen Graden der Rauheit (Mittelwerte und Standardabweichungen).

Die Werte (siehe **Tab. 5**) für Titanproben lagen für glatt bei 3263 ± 475 rfu, für mittelrau bei 3331 ± 641 rfu und für rau bei 3656 ± 855 rfu. Ein statistisch signifikanter Unterschied ließ sich nicht feststellen. Die Werte der keramischen Probekörper lagen für glatt bei 4668 ± 1562 rfu, für mittelrau bei 5590 ± 1493 rfu und für rau bei 6875 ± 428 rfu. Lediglich der Vergleich zwischen der glatten und der rauhen Oberfläche zeigt hier einen statistisch signifikanten Unterschied auf ($p < 0.001$).

<u>Sanguini</u>		Titan			Keramik		
		glatt	mittelrau	rau	glatt	mittelrau	rau
T I T A N	glatt		1,000	0,953	0,036	< 0,001	< 0,001
	mittelrau	1,000		0,979	0,052	< 0,001	< 0,001
	rau	0,953	0,979		0,244	0,001	< 0,001
K E R A M I K	glatt	0,036	0,052	0,244		0,341	< 0,001
	mittelrau	< 0,001	< 0,001	0,001	0,341		0,069
	rau	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,069	

Tab. 5 Statistische Analyse (Signifikanzwerte) der Oberflächenrauheit und der Relativen Fluoreszenz Intensität für *S. sanguinis*. (Einfaktorielle ANOVA mit $\alpha=0,05$)

5.2.2 Einfluss der Hydrophobizität auf die bakterielle Adhäsion (2. Versuchsreihe)

5.2.2.1 Staphylococcus epidermidis

S. epidermidis (**Abb. 12a**) zeigte auf den hydrophoben Oberflächen bei Betrachtung der jeweiligen Materialien eine höhere bakterielle Adhäsion als auf den hydrophilen. Dabei waren die Mittelwerte der relativen Fluoreszenzintensitäten (rfi) (**Tab. 6**) und somit die Adhäsion auf Keramik niedriger als auf den Titanproben, unabhängig von der Hydrophobizität.

	Titan glatt	Titan rau	Keramik glatt	Keramik rau
hydrophil	3897 ± 985	5662 ± 1884	2522 ± 775	1644 ± 1225
hydrophob	5337 ± 1511	5916 ± 2472	3395 ± 1738	2676 ± 1476

Tab. 6: Übersicht der rfi-Werte von *S. epidermidis* in Abhängigkeit der Hydrophobizität (in rfu)

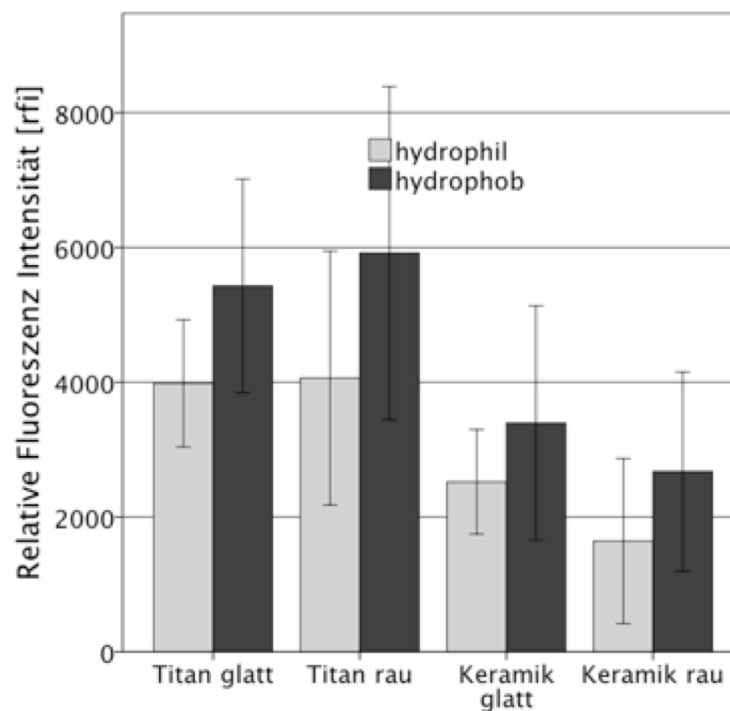


Abb. 12a Relative Fluoreszenzintensitäten [rfi] von *S. epidermidis* auf Titan- und Keramik-Implantat-Oberflächen mit verschiedenen Graden von Rauheit und Hydrophobie (Mittelwerte und Standardabweichungen).

Der Vergleich der vier verschiedenen hydrophilen Oberflächen (**Tab. 7**) zeigte, dass die bakterielle Adhäsion auf „Keramik rau“ statistisch signifikant geringer war als auf beiden Titanproben. In Bezug auf „Titan rau“ lag die statistische Signifikanz bei $p=0,004$, bei „Titan glatt“ bei $0,005$. Zwischen den anderen Proben konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden.

<u>Epidermidis hydrophil</u>		Titan		Keramik	
		glatt	rau	glatt	rau
T I T A N	glatt		0,999	0,125	0,005
	rau	0,999		0,098	0,004
K E R A M I K	glatt	0,125	0,098		0,526
	rau	0,005	0,004	0,526	

Tab. 7 Statistische Analyse (Signifikanzwerte) der Oberflächenrauheit und der Relativen Fluoreszenz Intensität für *S. epidermidis, hydrophil* (Einfaktorielle ANOVA mit $\alpha=0,05$)

Für die hydrophoben Proben war das Ergebnis ähnlich (**Tab. 8**). Lediglich auf „Keramik rau“ konnte eine signifikant geringere Adhäsion in Bezug auf die Titanproben festgestellt werden. Die Werte zeigten zwischen „Keramik rau“ und „Titan rau“ eine Signifikanz von $p=0,008$. Zwischen „Keramik rau“ und „Titan glatt“ ergab sich $p=0,030$.

<u>Epidermidis hydrophob</u>		Titan		Keramik	
		glatt	rau	glatt	rau
T I T A N	glatt		0,953	0,151	0,030
	rau	0,953		0,052	0,008
K E R A M I K	glatt	0,151	0,052		0,866
	rau	0,030	0,008	0,866	

Tab. 8 Statistische Analyse (Signifikanzwerte) der Oberflächenrauheit und der Relativen Fluoreszenz Intensität für *S. epidermidis, hydrophob* (Einfaktorielle ANOVA mit $\alpha=0,05$)

5.2.2.2 *Streptococcus sanguinis*

S. sanguinis zeigte größtenteils eine Hydrophilie für die verschiedenen Materialien (**Abb. 12b**), ausgenommen für „Titan rau“. Hier zeigte sich tendentiell eine höhere bakterielle Adhäsion auf den hydrophoben Probekörpern. Im Gegensatz zu *S. epidermidis* (siehe 5.2.2.1) waren die Mittelwerte der relativen Fluoreszenzintensitäten (rfi) (**Tab. 9**) und somit die Adhäsion auf Titan geringer als auf Keramik, unabhängig von der Hydrophobizität.

	Titan glatt	Titan rau	Keramik glatt	Keramik rau
hydrophil	1536±2273	4734±2275	13381±1463	18169±1015
hydrophob	445±232	5681±3490	10783±6554	17645±3385

Tab. 9.: Übersicht der rfi-Werte von *S. sanguinis* in Abhängigkeit der Hydrophobizität (in rfu)

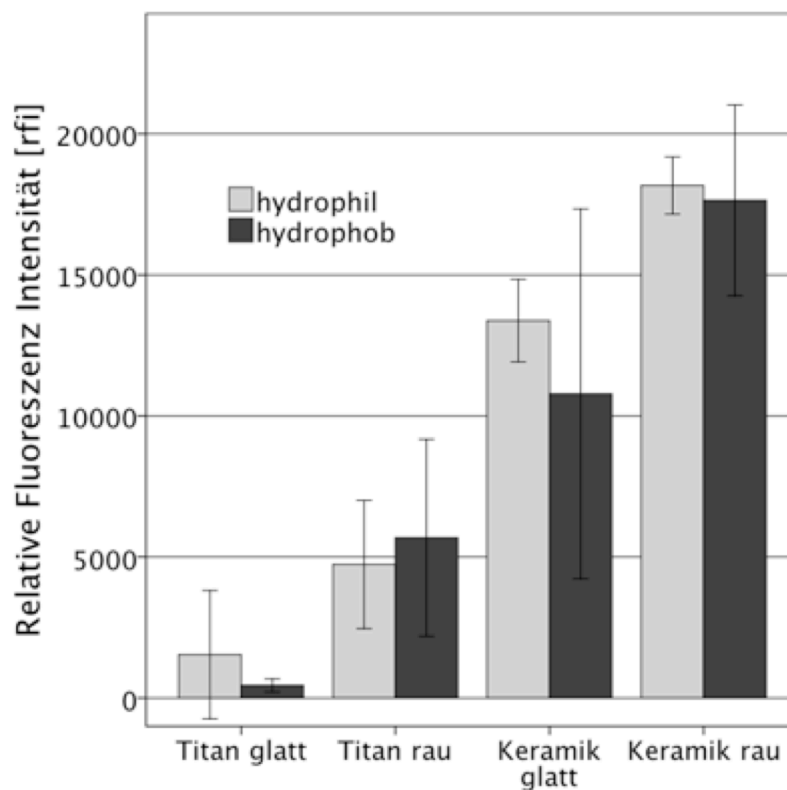


Abb. 12b Relative Fluoreszenzintensitäten [rfi] von *S. sanguinis* auf Titan- und Keramik-Implantat-Oberflächen mit verschiedenen Graden der Rauheit und Hydrophobie (Mittelwerte und Standardabweichungen).

Kein signifikanter Unterschied wurde zwischen den hydrophilen und hydrophoben Oberflächen festgestellt (für Titan-glatt: $p=0,997$; für Titan-rau: $p=0,999$; für Keramik-glatt: $p=0,723$ und für Keramik-rau: $p>0,999$).

Hydrophile Titan- und hydrophile Keramikoberflächen zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen rauem und glattem Material ($p>0,05$ für beide Vergleiche).

Der Vergleich der vier getesteten hydrophilen Oberflächen (**Tab. 10**) zeigte zwischen allen einen statistisch signifikanten Unterschied ($p<0,05$). „Titan glatt“ wies die geringste Adhäsion von *S. sanguinis* auf, gefolgt von „Titan rau“ und „Keramik glatt“. Die höchsten rfi-Werte zeigte „Keramik rau“ auf.

<u>Sanguinis hydrophil</u>		Titan		Keramik	
		glatt	rau	glatt	rau
T I T A N	glatt		0,008	< 0,001	< 0,001
	rau	0,008		< 0,001	< 0,001
K E R A M I K	glatt	< 0,001	< 0,001		< 0,001
	rau	< 0,001	< 0,001	< 0,001	

Tab. 10 Statistische Analyse (Signifikanzwerte) der Oberflächenrauheit und der Relativen Fluoreszenz Intensität für *S. sanguinis, hydrophil* (Einfaktorielle ANOVA mit $\alpha=0,05$)

Bei Betrachtung der hydrophoben Oberflächen zueinander (**Tab. 11**) zeigte sich, dass beide Keramikproben eine statistisch signifikant höhere Adhäsion aufwiesen in Bezug auf „Titan glatt“ (jeweils $p < 0,001$). „Keramik rau“ zeigte zudem eine signifikant höhere Adhäsion als „Titan rau“ ($p < 0,001$) und „Keramik glatt“ ($p = 0,011$). Lediglich zwischen „Keramik glatt“ und „Titan rau“, sowie zwischen beiden Titanoberflächen konnte kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden.

		Titan		Keramik	
		glatt	rau	glatt	rau
T I T A N	glatt		0,071	< 0,001	< 0,001
	rau	0,071		0,082	< 0,001
K E R A M I K	glatt	< 0,001	0,082		0,011
	rau	< 0,001	< 0,001	0,011	

Tab. 11 Statistische Analyse (Signifikanzwerte) der Oberflächenrauheit und der Relativen Fluoreszenz Intensität für *S. sanguinis, hydrophob* (Einfaktorielle ANOVA mit $\alpha = 0,05$)

6 Diskussion

Ziel der vorliegenden in-vitro-Untersuchung war es, die initiale Biofilmbildung auf zwei unterschiedlichen Implantatoberflächen, Keramik und Titan, zu beschreiben. Hierzu wurde der Einfluss der Rauheit, der Morphologie des Substrats und der freien Oberflächenenergie auf die bakteriellen Adhäsionsprozesse betrachtet.

6.1 Methoden

Die vorliegende Arbeit stellt eine reproduzierbare in-vitro-Studie dar, welche die Einflussgrößen Rauheit und Hydrophobizität von Implantatoberflächen auf die Biofilmbildung untersuchen sollte. Es wurde unter semistatischen Versuchsbedingungen gearbeitet und verschiedene Bakterienanlagerungsversuche mit Fluoreszenzauswertungen durchgeführt. Ein in-vivo-Versuchsaufbau wurde wegen der erschwerten Standardisierung und Vergleichbarkeit primär nicht durchgeführt. Pellikel wie auch Speichelzusammensetzung sind inter- und intraindividuell verschieden [HANNIG et al., 1997] was dazu führt, dass bei in-vivo-Versuchen deutlich mehr Parameter die Studie beeinflussen.

6.1.1 Biofilmmodell

Der Kenntnisstand über orale Biofilme im Zusammenhang mit dem Einfluss der Oberflächenbeschaffenheiten auf die mikrobielle Anhäufung ist aktuell noch lückenhaft [YEO et al., 2012], die genauen Mechanismen der Zelladhäsion und der mikrobiellen Besiedelung sind noch nicht vollständig verstanden [MILLEDING et al., 1999]. Zudem sind wichtige Prozesse der oralen Biofilmbildung noch nicht vollständig erforscht [STEINBERG et al., 1998]. Studien, die sich mit diesem Thema befassen, zeigen, dass Rauheit, freie Oberflächenenergie und die Materialeigenschaften die Haupteinflussfaktoren für die initiale bakterielle Besiedelung sind [YEO et al., 2012]. Es ist daher notwendig, die Zusammenhänge zwischen bakterieller Adhäsion und Modifikationen von Oberflächeneigenschaften, sowie das unterschiedliche Verhalten verschiedener Bakterienarten in

vereinfachten, standardisierbaren, reproduzierbaren und kontrollierbaren Modellen zu untersuchen. Erlangte Grundkenntnisse können dann *in-vivo* verifiziert und schließlich in neue klinische biomaterielle Anwendungen umgesetzt werden. Da prinzipielle Grundmechanismen analysiert werden sollten, wurde ein reproduzierbarer und vereinfachter Versuchsaufbau mit standardisierbaren Versuchsbedingungen gewählt.

Es wurden sämtliche Proben mittels Schüttelgerät bewegt und bei 37°C inkubiert. Somit konnte ein kontinuierlicher und semistatischer Speichelfluss simuliert werden, bei gleichzeitiger Kontrolle der Bakterienkonzentration. Ein laminares Strömungskammersystem, womit die durch den Speichelfluss bedingten dynamischen Verhältnisse der Mundhöhle imitiert werden sollen [HAHNEL et al., 2008a], kam nicht zur Anwendung. Diese sind sehr diffizil in der Technik. Und um gut abgestimmte Versuchsabläufe zu gewährleisten, müssen in Vorversuchen die Parameter Abscherkraft und Speichelflussgeschwindigkeit ermittelt werden [KLEMM, 2009]. Die Vergleichbarkeit wäre stark eingeschränkt, da CHRISTERSSON et al. (1989) zeigen konnten, dass bei einer gesteigerten Fließgeschwindigkeit die bakterielle Adhäsion um 70-80% reduziert sein kann [KLEMM, 2009]. Darüberhinaus zeigten BÜRGERS et al. (2010a), dass semistatische *in-vitro*-Modelle ein realistisches und reproduzierbares Modell zur Untersuchung der Bakterienadhäsion darstellen. Sie verglichen ihre Ergebnisse und die Übertragungsmöglichkeit der *in-vitro*-Untersuchungen mit den Ergebnissen der parallel durchgeführten *in-vivo*-Untersuchungen und konnten eine Übereinstimmung in den untersuchten Parametern feststellen [BÜRGERS et al., 2010a].

Es wurden zwei Testkeime verwendet um deren initiale Adhäsion für die entsprechende Oberfläche zu ermitteln. Das in der Literatur oft geforderte polymikrobielle Biofilmmodell kam nicht zur Anwendung. Zwar bieten *in-vitro*-Biofilm-Modelle mit Multi-Spezies-Biofilmen eine Möglichkeit, Materialien unter simulierten klinischen Bedingungen, einschließlich Biofilmaufbau, Pellicel und Abscherkräften zu bewerten [RIMONDINI et al., 1997], jedoch ist für ein grundlegendes Verständnis der Vorgänge und zur besseren Übersicht primär ein Modell mit reduzierter Modellkeimart nachvollziehbarer.

Inkubationszeiten von weniger als 24 Stunden wurden gewählt, da es Ziel der Studie war, die initiale Biofilmbildung zu untersuchen. Somit konnte in diesem

statischen Versuchsaufbau der Einfluss von toxischen bakteriellen Stoffwechselprodukten ausgeschlossen werden. [EICK et al., 2004; Klemm, 2009] Da Speichel-Proteine die initiale Adhäsion von Mikroorganismen in der Mundhöhle vermitteln [CARLÈN et al., 2003], wurde Kunstspeichel zur Pellicel-Simulation verwendet. Durch Inkubation mit künstlichem Speichel wurden interindividuelle Protein-Schwankungen ausgeschlossen. Des Weiteren ist künstlicher Speichel wesentlich genauer in Reproduzier- und Vergleichbarkeit, da die Ausgangsstoffe für eine künstliche Speichelmixtur eindeutig in Art und Gewicht definiert sind. Für BJÖRKLUND et al. (2011) ist humaner Speichel komplex, seine Zusammensetzung zudem stark variabel und große Mengen zu bekommen, sind nicht möglich, sodass er ebenfalls künstlichen Speichel für seine Versuche nutzte.

6.1.2 Auswertung

Methoden zur Auswertung für die Biofilmadhäsion sind vielfältig. In dieser Studie erfolgte die quantitative Analyse der Bakterienadhäsion durch Fluoreszenzmessung mittels Auswertung der Fluoreszenzintensitäten (RFI), da die relative Fluoreszenzintensität linear mit der Zahl der adhärenen Bakterien korreliert [HAHNEL et al., 2008b]. Ein reproduzierbares und ausreichend genaues Fluoreszenzsignal wird bereits bei 80 mikrobiellen Zellen erreicht [O'BRIEN et al., 2000].

Verfahren zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von fluoreszierenden Substanzen in der sog. Fluoreszenzmikroskopie (=Fluorimetrie) bieten eine gute Möglichkeit, eine hohe Anzahl von Proben gleichzeitig und in kurzer Zeit untersuchen zu können, um reproduzierbare und vor allem aussagekräftige Daten zu erhalten [HANNIG et al., 2010]. Im Vergleich zur UV-Vis-Spektrometrie weist die Fluorimetrie eine höhere Sensitivität auf [Earl WEHRY, 1997].

6.2 Material

In der dentalen Implantologie konnten in den letzten Jahrzehnten große Fortschritte im Verständnis über die Knocheneinheilung von dentalen Implantaten gemacht werden [WILMOWSKY et al., 2013].

Als entscheidender Einfluss gilt die Beherrschbarkeit der Biofilmbildung auf Flächen im oralen Cavum. Dabei ist die Biofilmbildung, die nicht nur an Implantaten, sondern auch an ihren Suprakonstruktionen auftritt, für den langfristigen Therapieerfolg eines Implantates als risikoreich anzusehen. [ELTER et al., 2008; DHIR, 2013]

Biofilme stellen die häufigste Ursache einer Periimplantitis dar und sind bei deren Fortschreiten für den Implantatverlust verantwortlich [ABRAHAMSSON et al., 1998; ELTER et al., 2008; OH et al., 2002; ZITZMANN et al., 2002; DHIR, 2013]. Eine Konsequenz aus dieser Erkenntnis ist die Modifikation der Implantatoberflächen zur Verringerung der Oberflächenadhäsion von Mikroorganismen. Nach OLIVEIRA et al. (2012) sind Oberflächeneigenschaften von Implantat und Abutment ein großer Einflußfaktor für den langfristigen Therapieerfolg. Hierbei stehen die physikalisch-chemischen Oberflächeneigenschaften des Implantatmaterials im Vordergrund, welche durch die Materialauswahl, die Oberflächenmorphologie und durch Oberflächenbeschichtungen beeinflussbar sind [GROSSNER-SCHREIBER et al., 2001; SCARANO et al., 2004; Del CURTO et al., 2005; TEUGHELIS et al., 2006]. Dabei sind Oberflächenrauheit und Hydrophobizität die primären Einflussfaktoren auf mikrobielle Adhäsion und Biofilmbildung an Implantatoberflächen [QUIRYNEN et al., 1995; AN und FRIEDMAN, 1998; SUBRAMANI et al., 2009].

6.2.1 Testkeime (*S. sanguinis* und *S. epidermidis*)

Als Test-Mikroorganismen wurden *S. epidermidis* und *S. sanguinis* verwendet um verschieden behandelte Implantatoberflächen mit Mono-Spezies-Biofilme zu inkubieren, mit dem Ziel die initiale bakterielle Adhäsion untersuchen zu können. *S. epidermidis* und *S. sanguinis* gehören zu den wichtigsten Frühkolonisatoren der oralen Gewebe und künstlichen Biomaterialien, wodurch die weitere Adhäsion anderer pathogener Spezies ermöglicht wird [DEWHIRST et al., 2010;

KOLENBRANDER et al., 1993]. *S. epidermidis* und *S. sanguinis* stellen dabei zwei dominante [KRETH et al., 2008], jedoch sehr verschiedenartige bakterielle Familien dar. Es sind die Familien der *Streptococcaceae* und *Staphylococcaceae*, welche zum menschlichen oralen Mikrobiom zählen [DEWHIRST et al., 2010]. Diese Bakterien siedeln sich auf den Schleimhäuten des Menschen an und binden auf harten Oberflächen in der Mundhöhle [DEWHIRST et al., 2010].

S. sanguinis ist in der menschlichen Mundhöhle als Pionierbakterium bekannt [KOLENBRANDER et al., 1993; MARSH und BRADSHAW, 1995; LILJEMARK et al., 1997]. *S. epidermidis* ist normalerweise ein kommensales, symbiotisches Bakterium der Haut [KIRCHHOFF und SHEARGREN, 1985]. Das Wissen um dessen Vorhandensein ist von hohem Interesse vor chirurgischen Eingriffen zur Implantatversorgung am Patienten, da das Wachstum von pathogenen *S. epidermidis*-Biofilmen auf verschiedenen Implantaten wie Brust- und Hüftimplantaten zu einem Implantat-Misserfolg führen kann [FREEDMAN und JACKSON, 1989; ARCIOLA et al., 2005]. In einigen neueren Studien wurde *S. epidermidis* auch in pathogenen Biofilmen auf Dental-Implantaten gefunden, welche nach Misserfolg verloren gingen [LEONHARDT et al., 1999].

6.2.2 Fluoreszenzfarbstoff

In dieser Studie wurde das Cytox-Violett-Cell-Proliferation-Assay-KIT verwendet um die Menge an anhaftenden und lebensfähigen Bakterien auf den Versuchsproben einfacher messen zu können. Die Veränderung der Indikatorfluoreszenz zeigt die Aktivität der zellulären Dehydrogenasen und ist proportional zur Lebensfähigkeit der anhaftenden Bakterienzellen. Hierbei sei erwähnt, dass diese spezifische Methode keine lebenden anhaftenden Bakterien detektieren kann und somit nicht zwischen kultivierbaren vitalen Zellen und nicht-kultivierbaren vitalen Zellen unterscheiden kann. Der Vorteil liegt in der einfachen Handhabung und einer Ein-Schritt-Anwendung, welche präzise und reproduzierbare Ergebnisse liefert. [Epigentek Group Inc., NY, USA] Zudem sind fluorometrische Techniken sehr empfindlich und reproduzierbar in der Quantifizierung der Biofilmbildung auf Implantatoberflächen [BÜRGERS et al., 2010a].

Dies ist wichtig, da HANNIG et al. (2007a) bei Bakterienanlagerungsversuchen große Mengen von toten Bakterien (bis zu 40%) schon nach kurzer Inkubationszeit auf den Versuchsproben fanden. Um diesem Phänomen entgegen zu wirken, wurde in dieser Studie zwischen Anlagerung und Farbstoffzugabe gespült.

6.2.3 Titan

In der dentalen Implantologie ist Titan wegen seiner Biokompatibilität [NOGUTI et al., 2012] und hervorragenden mechanischen Eigenschaften (Korrosionsbeständigkeit, etc.) das am häufigsten und am erfolgreichsten eingesetzte Standard-Material [NARDO et al., 2012; SCHMIDT et al., 2001]. Eine Änderung an der Oberflächenmorphologie von Titan kann dabei sehr leicht durch mechanische (Sandstrahlen), chemische (Ätzen) [LANG et al., 2011; RUPP et al., 2011; Del CURTO et al., 2005; HU et al., 2011; FRÖJD et al., 2011], Beschichtungen [MISTRY et al., 2011; THOMA et al., 2011], elektromechanische Modifikationen [GIORDANO, 2011; YOSHINARI et al., 2000] und weitere Methoden erreicht werden. Titan wurde aufgrund seiner Indikation als Werkstoff und wegen seiner Häufigkeit als Ausgangsmaterial für dentale Implantate und Suprakonstruktionen für diese Studie ausgewählt.

6.2.4 Keramik

In den letzten Jahren wurde als Alternative zu Titan das hochfeste Zirkoniumdioxid als Implantat- und Suprakonstruktionsmaterial eingeführt [VOLZ 2003; ÖZKURT et al., 2011]. Es ist sehr korrosionsbeständig, zeigt eine verbesserte Ästhetik an der Weichgewebsumschicht, besitzt keine zerstörbare Passivierungsschicht, gilt als Biomaterial und zeigt ein niedriges Potenzial für eine Biofilmbesiedlung [HANNIG und HANNIG, 2009; KAWAI et al., 2001; PICONI et al., 1999; RIMONDINI et al., 2002; SCARANO et al., 2004; GOMES et al., 2011]. Über Zirkoniumdioxid als Implantat- und Suprakonstruktionsmaterial und seine mikrobielle Leistungsfähigkeit liegen momentan noch sehr wenige Informationen vor. Zirkoniumdioxid zeigt unter verschiedenen keramischen Materialien die geringste

Biofilmanlagerung und die größte Materialhärte [BREMER et al., 2011]. Im Vergleich zu Titan konnte Zirkoniumdioxid die geringste Biofilmadhäsion aufzeigen [NASCIMENTO et al., 2013]. Nach BUSSCHER et al. (2010) sind Biofilme auf Keramik dünn aber dennoch hoch entwicklungsfähig.

Da Zirkoniumdioxidimplantate sich noch nicht in der routinemäßigen klinischen Anwendung befinden [ÖZKURT et al., 2011], zudem grundlegende Informationen in seinem Adhärenzverhalten herauszufinden sind, wurde dieses Material ausgewählt.

6.3 Ergebnisse

6.3.1 Implantatmaterialien (Titan / Zirkoniumdioxid)

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie für den Materialeinfluss der Werkstoffe Titan und Zirkoniumdioxid auf die mikrobiell initiale Adhäsion variierten zwischen den Bakterienarten. Während für *S. epidermidis* primär die Rauheit entscheidend für die Anlagerung war, zeigte sich für *S. sanguinis* der Werkstoff (Titan oder Zirkoniumdioxid) als ausschlaggebender Faktor.

Für *S. sanguinis* war das Adhäsionspotenzial auf Zirkoniumdioxid signifikant höher als auf Titan der entsprechenden Rauheit. Einige Autoren berichten über eine antibakterielle Wirkung des Titans, was als Erklärung für die eher gering anhaftende Bakterienmenge auf Titan für *S. sanguinis* in Frage kommen könnte [BUNDY et al., 1980; LEONHARDT et al., 1995]. Titan bildet eine Oxidschicht an der Oberfläche [NARDO et al., 2012], was eine Erklärung für die signifikant geringeren Adhäsionsergebnisse von *S. sanguinis* auf Titan sein könnte. Diese Oxidschicht verhindert die weitere Korrosion und ist somit für die biologische Verträglichkeit des Werkstoffes verantwortlich [NARDO et al., 2012]. Die Passivierungsschicht ist dabei nicht elektronenleitend und selbst regenerierend [VITA Zahnfabrik H. Rauter GmbH & Co.KG, Deutschland, 2010].

Hinsichtlich der Proteinadsorption und der bakteriellen Adhäsion ähneln sich die biologischen Eigenschaften von Titan und Zirkoniumdioxid [OLIVEIRA et al., 2012], zudem zeigen beide Materialien Ähnlichkeiten in Biokompatibilität und Osseointegration [MÖLLER et al., 2012]. Subtile, jedoch signifikante Unterschiede finden sich bei bakteriellen Bindungsmustern [LIMA et al., 2008]. Für das ähnliche Verhalten von *S. epidermidis* auf beiden Oberflächen könnte dies eine Erklärung sein.

In neueren Studien über die Biofilmbildung auf Implantatoberflächen ist man zu dem Schluss gekommen, dass Zirkoniumdioxid ein niedrigeres Potenzial für eine bakterielle Adhäsion zeigt als Titan. [SCARANO et al., 2004; RIMONDINI et al., 2002] Ein Effekt, der auf die spezifische chemische Struktur und der daraus resultierenden elektrischen Leitfähigkeit von Zirkoniumdioxid zurückgeführt wird [SCARANO et al., 2004; AL-AHMAD et al., 2010; POORTINGA et al., 1999]. Zirkoniumdioxid zeigte unter verschiedenen keramischen Materialien die geringste

Biofilmanlagerung [BREMER et al., 2011]. Im Vergleich zu Titan konnten NASCIMENTO et al. (2013) zeigen, dass Zirkoniumdioxid die geringere Biofilmadhäsion zeigte [NASCIMENTO et al., 2013]. Andere Studien konnten die Überlegenheit von Zirkoniumdioxid im Hinblick auf seine mikrobielle Adhäsionstendenz nicht bestätigen, jedoch zeigen, dass die Biofilmentstehung nicht durch die Art der Oberflächenbeschaffenheit des Materials beeinflusst wird [van BRAKEL et al., 2011; AL-AHMAD et al., 2010; LIMA et al., 2008; TANNER et al., 1997]. In einer in-vivo-Studie von SALIHOGLU et al. (2011) wurden keine Unterschiede hinsichtlich des Adhäsionsverhaltens und der Besiedelungstendenz zweier parodontaler Keime auf den Materialien Titan und Zirkoniumdioxid gefunden [SALIHOGLU et al., 2011]. Die Osseointegration von Zirkoniumdioxid-Implantaten konnte durch Modifikation der Materialoberfläche wesentlich verbessert werden [NOWAK, 2010; MÜLLER et al., 2011a; ÖZKURT et al., 2011]. Die Einflüsse von Rauheit und SFE auf die beiden Materialien und die beiden Modellkeime werden unter 6.3.2 Rauheiten und 6.3.4 SFE diskutiert.

6.3.2 Einfluss der Rauheit

In der vorliegenden Studie führte das Sandstrahlen (mit 50 µm und 250 µm Korund, 2 bar, 15 sec.) zu einem signifikanten Anstieg der Rauheitswerte (R_a) von Titan- und Keramikoberflächen. Trotz gleicher Behandlung, wie Polieren und Sandstrahlen, wiesen die Titanoberflächen signifikant höhere Rauheitswerte auf als Zirkoniumdioxidoberflächen. Dies erklärt sich aus der höheren Materialhärte von Zirkoniumdioxid (Härte nach Vickers (HV) = ~ 1300 HV 10 [nach GAUCKLER et al. 2001]) im Vergleich zu Titanmaterialien (HV = ~ 126 - 200 HV 10 Titan Grad 1-4 [nach WEBER et al., 1992]). Dabei ist 1300 der Härtewert, HV das Verfahren und 10 die Prüfkraft F in Kilopond [WEBER et al., 1992].

Zur Auswertung der Rauheit wurde der arithmetische Mittelwert des Rauheitsprofils R_a nach DIN 4768, ISO 4287/1 (siehe **Abb. 13**), also der Durchschnitt aller eingesetzten Titan- und Keramikplättchen, in Mikrometern bestimmt. R_a ist dabei der arithmetische Mittelwert aller Abweichungen des Rauheitsprofils von der mittleren Linie innerhalb einer Bezugsstrecke. Nach EICHNER (2005) zeigt R_a , dass die Messwerte bei Abtastung des Prüfobjektes an unterschiedlichen Flächenausschnitten relativ konstant bleiben [EICHNER, 2005],

da R_a , „Spitzen“ und „Riefen“ nicht unterscheiden kann [VOLK, 2005]. Weiterhin werden verschiedene Profilformen nicht erkannt [VOLK, 2005]. Es ist also notwendig den Charakter der Rauheit durch Voruntersuchungen zu bestimmen [VOLK, 2005].

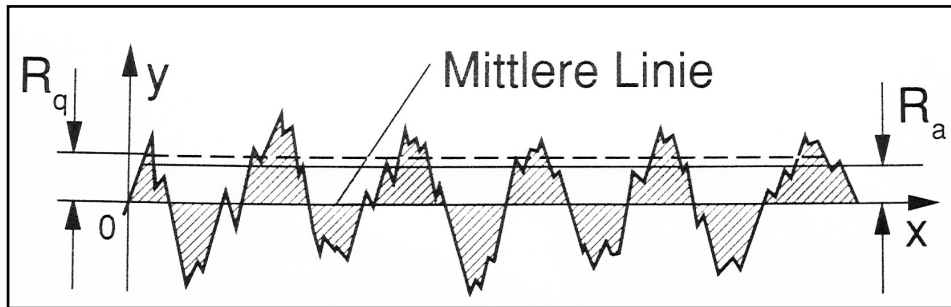


Abb. 13 Schema der Mittenrauheit R_a

Die R_a -Werte der Proben waren höher als die handelsüblicher Implantat-abutmentoberflächen, welche von $0,10\ \mu\text{m}$ bis $0,30\ \mu\text{m}$ reichen [QUIRYNEN et al., 1994a]. Diese Rauheit wurde dadurch erreicht, dass die Oberflächen nicht nur sandgestrahlt, sondern anschließend zusätzlich geätzt wurden. Nach der Klassifikation von ALBREKTSSON und WENNERBERG (2004) gelten glatte Materialien aus Keramik und Titan und mittelraue Keramiken als „glatt“ bei einem R_a -Wert $< 0,5\ \mu\text{m}$, mittelraues Titan als „geringfügig rau“ ($R_a = 0,5 - 1,0\ \mu\text{m}$), raue Keramik als „mäßig rau“ ($R_a = 1,1$ bis $2,0\ \mu\text{m}$) und raues Titan als „rau“ ($R_a > 2,0\ \mu\text{m}$). Somit entsprechen die hergestellten und verwendeten Rauheitswerte denen der Klassifikation. Für die Betrachtung des Adhäsionspotenziales konnten BOLLEN et al. (1996) und QUIRYNEN et al. (1996) für Titan einen Schwellenwert von $R_a = 0,2\ \mu\text{m}$ ermitteln, unter welchem eine Änderung der Rauheit keinen signifikanten Einfluss mehr auf die Biofilm-Menge ergab.

In der vorliegenden Studie lagen die mittelrauen und rauhen Oberflächen über einem R_a -Wert von $0,2\ \mu\text{m}$ und somit über diesem Schwellenwert, wodurch eine Korrelation zwischen Rauheit und bakterieller Adhäsion erwartet werden konnte.

In den meisten bisherigen Studien über die bakterielle Adhäsion auf Titan- und Keramikoberflächen konnte ein direkter Zusammenhang zwischen der Menge der adhärenierten Bakterien und der zunehmenden Rauheit gezeigt werden [SCARANO et al., 2004; AL-AHMAD et al., 2010; RIMONDINI et al., 2002, 1997; BÜRGERS et al., 2010a+b].

Dennoch berichteten zwei in-vivo-Studien über gegensätzliche Beobachtungen hinsichtlich der Auswirkung der Oberflächenrauheit auf die bakterielle Adhäsion. GATEWOOD et al. (1993) und WENNERBERG et al. (2003) konnten dabei keine unterschiedlichen Mengen des adhären oralen Biofilms, weder auf rauem noch auf glatten Titan-Oberflächen, finden. AL-AHMAD et al. (2010) gehen davon aus, dass der Einfluss Rauheit und Material durch die Biofilmreifung kompensiert werden [AL-AHMAD et al.,2010].

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass nicht die Oberflächenrauheit den entscheidenden Einfluss auf die Menge des anhaftenden Bakteriums hatte, sondern die Wahl des Bakteriums sich unterschiedlich auf die verschiedenen Rauheitswerte und Oberflächen auswirkte. So zeigte sich, dass *S. epidermidis* tendenziell die glatten Oberflächen bevorzugte, egal ob Zirkoniumdioxid oder Titan. Zwischen beiden glatten Oberflächen fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied bei der Kolonisation von *S. epidermidis*, jedoch zwischen den glatten und den rauen Oberflächen bei beiden Materialien. *S. sanguinis* hingegen besiedelte die keramischen Oberflächen mit steigender Rauheit stärker. Für die geringere Anhaftung von *S. sanguinis* auf Titanoberflächen könnte der Einfluss der Passivierungsschicht von Titan eine Erklärungsmöglichkeit bieten. DRAKE et al. (1999) untersuchte ebenfalls die Besiedelung von *S. sanguinis* auf Titanoberflächen mit drei verschiedenen Rauheitswerten. Während er einen signifikanten Unterschied zur glatten Oberfläche aufzeigte, konnte in vorliegender Studie lediglich eine tendenziell größere Besiedelung bei höherer Rauigkeit festgestellt werden. Dieses Ergebnis liegt mutmaßlich daran, dass die Differenz der R_a -Werte bei DRAKE et al. (1999) größer ist als in vorliegender Studie.

Für eine eindeutige Klärung dieses Sachverhaltes sollten weiterführende Versuchsreihen erfolgen, die weitere Einflussfaktoren (Passivierungsschicht) berücksichtigen. Auch sollten alle 619 Taxa in ihrem Adhäsionsverhalten untersucht werden.

6.3.3 AFM

Die rasterkraftmikroskopische Betrachtung (AFM) wurde zur Darstellung der unterschiedlichen Oberflächenrauheiten verwendet. Diese Methode kann im Rückschlussverfahren ein genaueres Bild der Art und Weise der Bakterienhaftung

sowie deren Quantität (Anzahl) zeichnen. Im Gegensatz zum Tastschnittverfahren (Perthometer) können unregelmäßigere Materialstrukturen erfasst werden. Es wurden Scanbereiche von $9 \mu\text{m}^2$ (**Abb.10**) und von $900 \mu\text{m}^2$ (**Abb.10**) aufgenommen.

Bei näherer Betrachtung des $9 \mu\text{m}^2$ Scan-Bereiches (siehe **Abb.10b**) und in Bezug auf die Bakteriengröße (eine einzelne Zelle misst ungefähr $1 \mu\text{m}$ im Durchmesser) konnten keine Unterschiede im Oberflächenprofil und in der Morphologie zwischen allen getesteten Oberflächen gefunden werden, außer für raues Titan.

Durch rasterkraftmikroskopische Analysen, sind die meisten Oberflächen rau, dabei ist es irrelevant, wie gut die Oberflächenpolitur erfolgte. Eine absolut glatte Oberfläche gibt es nicht, sondern es handelt sich dabei lediglich um eine Definition bei welcher Rauheit und welchem optischen Auflösungsvermögen eine Oberfläche als „glatt“ bezeichnet wird. Spanische Wissenschaftler schafften 2008 eine zuvor unerreicht hochglatte Oberfläche, indem sie eine nur wenige Nanometer starke Bleischicht auf einen Siliziumwafer aufbrachten [BARREDO et al., 2008]. Dabei ist diese Schicht auch nicht gänzlich glatt, sondern zeigt in unregelmäßigen Abständen Erhöhungen und Vertiefungen [BARREDO et al., 2008]. Deshalb bieten bis jetzt alle Arten von Oberflächen eine ausreichende Haftung für eine mikrobielle Anhäufung [POON et al., 1995]. Für eine noch genauere Oberflächenprofil-Analyse eignen sich Optische-3D-Messverfahren, da beim Tastschnittverfahren und der AFM-Methode durch die Form der Diamant- oder AFM-Spitze eine Tiefpass-Filterung des wahren Höhenprofils erfolgt, wobei schmale „Täler“ ausgefiltert und scharfe Spitzen verbreitert werden [STOCKHAUSEN, 2009]. Implantathersteller können mittels 3D-Messverfahren die gesamte Oberflächentopographie eines Implantates flächenhaft analysieren und so die entsprechende Proteinbindungskapazität sicherstellen, die für den nachhaltigen und optimalen Knochenverbund gefordert wird [KRENN, 2009].

Bei näherer Betrachtung des $900 \mu\text{m}^2$ Scan-Bereiches im AFM konnten großflächige Unebenheiten ($>30 \mu\text{m}$) beobachtet werden (**Abb. 10**). Die sich daraus ergebenden hohen R_a -Werte auf den sandgestrahlten rauen Titan- und Zirkoniumdioxidproben hatten keinen Einfluss auf die bakterielle Adhäsion in diesem semistatistischen Versuchsaufbau. Allerdings könnten diese Unebenheiten in einem in-vivo-Test mit supragingival angeordneten Probenkörpern und dem Einfluss von intraoralen Abscherkräften eine vermehrt mikrobielle Adhäsion

zulassen [BÜRGERS et al., 2010a; HANNIG, 1999a; QUIRYNEN et al., 1993].

Dementsprechend erklären die kleinen Rillen (Messung ca. 0,5 µm im Durchmesser im AFM) auf glatten Zirkoniumdioxidoberflächen die erhöhten Haftungen von Bakterien, gegenüber völlig ebenen Titanoberflächen, da nachgewiesen wurde, dass die initiale mikrobielle Besiedelung von kleinen und nicht von großen Unebenheiten und Rillen begünstigt wird [LIE, 1977, 1979; LIE und GUSBERTI, 1979; NYVAD und FEJERSKOV, 1987]

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die Oberflächenrauheitswerte R_a allein nicht ausreichen um den Einfluss der Oberflächenmorphologie auf die initiale bakterielle Adhäsion zu charakterisieren. Bei der periimplantären Umgebung handelt es sich um ein bewegungsloses und ein halbstatistisches Umfeld, das zusätzlich eine genauere oberflächenmorphologische Betrachtung und eine Auswertung per 3D-Mikrostrukturanalyse erfordert. Diese Beobachtungen werden durch BARBOUR et al. (2007) gestützt, die eine unterschiedliche bakterielle Adhäsion auf Oberflächen der gleichen Rauheit, aber unterschiedlicher Oberflächenmorphologie, beobachtet haben. Die unterschiedlichen Hafteigenschaften von *S. epidermidis* und *S. sanguinis* auf den getesteten Oberflächen kann auf morphologische Unterschiede zwischen den Bakterienarten zurückzuführen sein. Sie beobachteten weiterhin, dass *A. naeslundii* besser auf glatten Oberflächen als auf rauen Oberflächen haftet, während *S. mutans* raue Substrate bevorzugt [BARBOUR et al., 2007]. Auch haben TAYLOR et al. (1998) keine eindeutige Beziehung zwischen der Oberflächenrauheit von PMMA-Oberflächen und der Menge an adhärenen *S. epidermidis* finden können. Ein weiteres Indiz, dass für *S. epidermidis* die Rauheit einen geringen Einfluss auf die bakterielle Adhäsion haben könnte. Für eine detailliertere und wesentlich genauere und reproduzierbarere Analyse der Oberflächenmorphologien wäre die Nutzung eines optischen 3D-Messsystems zu bevorzugen.

6.3.4 Einfluss SFE und Hydrophobizität

Neben Oberflächenrauheit und Morphologie sind die Hydrophobizität und die freie Oberflächenenergie (SFE) einer Implantatoberfläche bekannte Einflussgrößen für die bakterielle Adhäsion [QUIRYNEN et al., 1994a+b; SUBRAMANI et al., 2009].

Die freie Oberflächenenergie kann dabei durch eine Randwinkelmessung oder sog. Goniometrie verschiedener Flüssigkeiten mit unterschiedlichen Hydrophobizitäten [BÜRGERS et al., 2010a] oder mit Hilfe der Benetzbarkeit durch Bestimmung des Wasser-Kontaktwinkels [BÜRGERS et al., 2009] berechnet werden.

Der Randwinkel (auch Kontaktwinkel θ genannt; **Abb. 14**) wurde aus der Winkeldifferenz zwischen der horizontalen oder ebenen Festkörperoberfläche und der Tangente am Tropfenrand mit Hilfe eines Fadenkreuzes in der Goniometersoftware gebildet und errechnet.

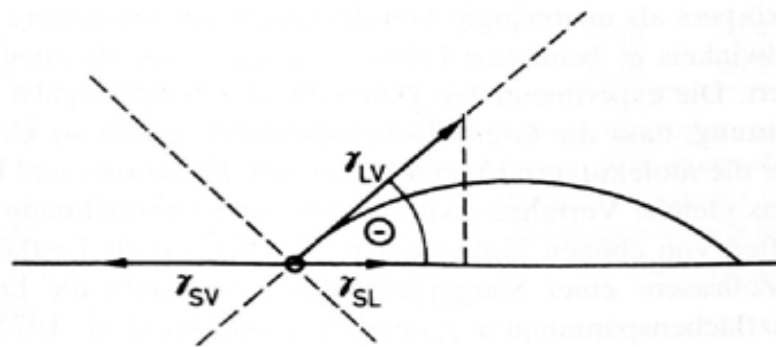


Abb.14 Kontaktwinkel θ eines Flüssigkeitstropfens auf einer festen ebenen Oberfläche [ADAM, LÄUGER et al., 2009 – Physikalische Chemie und Biophysik]

Ist der Randwinkel $>90^\circ$, ist der Tropfen nicht benetzend. Ist der Tropfen jedoch benetzend, wird der Randwinkel $<90^\circ$. Diese Methode wurde in der Young-Gauß-Gleichung (1830) definiert und dient der Charakterisierung der Interaktion zwischen Tropfen und Probe. Die Young-Gleichung beschreibt den Zusammenhang zwischen dem Kontaktwinkel und den jeweiligen Oberflächenenergien. [KWOK et al., 1998]

Dabei ist diese von der Polarität, der Hydrophilie und der Benetzbarkeit der eingesetzten Komponenten abhängig. Die völlige Benetzung tritt dann ein, wenn die freie Oberflächenenergie der Festkörperoberfläche gleich oder größer als die Oberflächenspannung der Flüssigkeit ist (0). Der resultierende Randwinkel θ wird zu Null und die Oberfläche ist damit hydrophil und hat damit mehr polare Molekülgruppen. Ein Tropfen mit hoher Oberflächenenergie (z.B. Wasser) auf einer Probe mit niedriger Oberflächenenergie (z.B. Teflon) appliziert, erzeugt einen relativ hohen Randwinkel. Wird der Flüssigkeit eine grenzflächenaktive Verbindung (=Tensid) zugeführt, dann wird die Oberflächenspannung der Flüssigkeit sinken und der Tropfen wird sich auf der Probe weiter ausbreiten. Als Resultat wird der Randwinkel wesentlich kleiner ausfallen. [ADAM et al., 2009]

In der vorliegenden Studie wurden zwei verschiedene Materialproben mit unterschiedlichen Hydrophobizitäten bei unterschiedlicher Oberflächenrauheit, ausgewählt um den Einfluss der Oberflächenrauheit auszuschließen.

Für *S. sanguinis* konnten keine Unterschiede hinsichtlich der bakteriellen Adhäsion zwischen hydrophoben und hydrophilen Oberflächen von Zirkoniumdioxid und Titan gefunden werden. *S. sanguinis* zeigte größtenteils eine Hydrophilie. Dabei bestand eine größere Affinität zum Zirkoniumdioxid als zu Titan. Die Einflussgröße „Hydrophobizität“ hatte für *S. sanguinis* nur einen geringen Einfluss. Die Materialwahl schien für *S. sanguinis* wichtiger zu sein. Für GRIVET et al. (2000) gab es eine signifikante Korrelation zwischen der bakteriellen Adhäsion von *S. sanguinis* und der Substrat-Hydrophobie, wonach hydrophobe Metalloberflächen die Haftung hydrophober Bakterien begünstigen. Die Kombination von Hydrophobizität und Oberflächenrauheit führte zu einer signifikant größeren Adhäsion auf den rauen, hydrophilen und hydrophoben Probekörpern gegenüber den entsprechenden glatten. Auch HAUSERGERSPACH et al. (2007) konnten zeigen, dass die Oberflächeneigenschaften von *S. sanguinis*-Zellen eine hydrophile Natur haben. Wohingegen die Zelloberfläche nach GRIVET et al. (2000) hydrophob ist.

Im Gegensatz dazu bevorzugte *S. epidermidis* hydrophobe Oberflächen und wies selbst eine Hydrophobizität auf. Zudem bestand eine höhere Affinität zum Werkstoff Titan als zum Zirkoniumdioxid. Dabei spielte die Oberflächenrauheit keine entscheidende Rolle.

Ergebnisse aus verschiedenen Studien berichten dabei widersprüchlich über die freie Oberflächenenergie und Hydrophobizität in Bezug auf die mikrobielle Adhäsion [GRIVET et al., 2000; NASSAR et al., 1995]. Es hat sich gezeigt, dass nach dem thermodynamischen Modell der mikrobiellen Adhäsion, hydrophobe Materialien bevorzugt durch hydrophobe Bakterien besiedelt werden und umgekehrt [WEERKAMP et al., 1988, 1985; GRIVET et al., 2000; MABBOUX et al., 2004; VERRAN et al., 1996]. Folglich werden die Hafteigenschaften von unterschiedlichen Bakterien durch die Hydrophobizität der bakteriellen Zelloberfläche beeinflusst [TEUGHELS et al., 2006; GRIVET et al., 2000]. Beide, *S. epidermidis* und *S. sanguinis* sind dafür bekannt, dass sie eher hydrophobe Zelloberflächen besitzen und daher hydrophobe Oberflächen von Implantaten bevorzugen [GRIVET et al., 2000; VERRAN et al., 1996].

Die Oberflächenrauheit selbst kann bekanntermaßen die Hydrophobizität beeinflussen [LIM und OSHIDA, 2001], dennoch haben Studien deutlich gemacht, dass geringe Abweichungen in der Oberflächenrauheit die Hydrophobizitätswerte nicht wesentlich beeinträchtigen [QUIRYNEN et al., 1996]. Im Falle einer Interaktion zwischen Oberflächenrauheit und Hydrophobizität scheint die Rauheit in in-vitro-Studien eine dominante Rolle zu spielen [TEUGHELIS et al., 2006; BÜRGERS et al., 2010a; QUIRYNEN und BOLLEN, 1995]. QUIRYNEN und BOLLEN (1995) fordern deswegen glatte Oberflächen mit einer niedrigen Oberflächenenergie um eine Verringerung der Biofilmadhäsion zu erreichen. Nach AL-RADHA et al. (2012) ist die SFE eine wichtige Einflußgröße für die initiale Biofilmadhäsion auf glatten Titan- und Zirkoniumdioxidoberflächen.

Abschließend wäre anzumerken, dass eine Analyse der Bakterienzelloberfläche weitere wichtige Erkenntnisse liefern könnte. Da auf dieser die wichtigen Adhäsine liegen, die einen entscheidenden Einfluss auf die Adhäsionsprozesse der Bakterien mit Oberflächen haben könnten und diese nicht nur für die Zell-Zell-Interaktion wichtig erscheinen.

7 Schlussfolgerungen

Die gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass sowohl Oberflächenhydrophobizitäten als auch Rauheit das Adhäsionspotenzial von Bakterien beeinflussen können. Für *S. sanguinis* wurde gezeigt, dass die Oberflächenrauheit der bestimmende Faktor für die initiale Adhäsion in dieser Versuchsanordnung ist und dass das spezifische Substrat eine starke Wirkung zeigen kann, während bei *S. epidermidis* die Hydrophobizität auf der Implantatoberfläche wichtiger zu sein scheint als die Oberflächenrauheit. Allerdings führen die Ergebnisse dieser Untersuchung zu der Hypothese, dass die Oberflächenrauheit nicht zwangsläufig, wie vielfach in der Literatur beschrieben, den dominierenden Faktor für die Biofilmbildung auf Implantatoberflächen darstellt, sondern, dass zudem andere Parameter, wie die Hydrophobizität in Betracht gezogen werden müssen. Absolute und allgemeingültige Aussagen für die zahnmedizinische Anwendung können aufgrund der unterschiedlichen Adhäsionsergebnisse der beiden Bakterienstämme nicht formuliert werden. Dies kann nur durch weitere Untersuchungen über eine größere Anzahl von Bakterienspezies (619 Taxa) und Multi-Spezies-Biofilmen erfolgen. Nur dann würden allgemeingültige Zusammenhänge klarer werden.

8 Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die in-vitro-Untersuchung der Biofilmbildung auf verschiedenen Implantatmaterialien unter den Einflüssen Rauheit und Hydrophobizität. Als Material wurde Reintitan und Yttrium-stabilisiertes Zirkoniumdioxid untersucht.

Die Proben wurden mit unterschiedlicher Oberflächentopographie sowie Hydrophobizität (hydrophob / hydrophil) versehen. Durch Perthometrie (R_a) wurde die mittlere Oberflächenrauheit ermittelt. Mit Hilfe der Atomic Force Microscopy (AFM) wurde das Oberflächenrelief dargestellt. Die Hydrophobizitäten wurden durch goniometrische Messungen identifiziert. Zu den verwendeten Bakterienkulturen zählten *Streptococcus sanguinis* und *Staphylococcus epidermidis*, welche sich bei 37°C für zwei Stunden auf jedem Material anlagerten. Für die mikrobiologische Analyse der erfolgten Anlagerung wurde die Fluoreszenz mittels automatisiertem Multi-Fluoreszenzmessgerätes ermittelt. Die Daten der Hydrophobizitäten wurden mit Hilfe eines Bildanalyseprogramms verarbeitet.

Es wurde festgestellt, dass sowohl Oberflächenhydrophobizität, wie auch Rauheit, die Hafteigenschaften von Bakterien beeinflussen können. Für *S. sanguinis* war die Oberflächenrauheit für eine initiale Adhäsion der bestimmende Faktor, sowie die Werkstoffauswahl, welche auf keramischen Oberflächen signifikant höher war als auf Titanoberflächen. Für *S. epidermidis* schien die Hydrophobizität auf der Implantatoberfläche bedeutender zu sein als die Oberflächenrauheit. Hydrophobe Oberflächen zeigten eine stärkere Adhäsion als hydrophile Oberflächen.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Oberflächenrauheit nicht zwangsläufig der bestimmende Faktor für die Biofilmbildung auf Implantatoberflächen bei diesen Bakterienspezies ist, sondern, dass zudem andere Parameter in Betracht gezogen werden müssen, wie die Hydrophobizität und die vorhandenen Adhäsine auf der Bakterienzelloberfläche. Bestimmende und allgemeingültige Aussagen für die zahnmedizinische Anwendung können aufgrund der unterschiedlichen Adhäsionsergebnisse der beiden Bakterienstämme nicht formuliert werden. Dies kann nur durch weitere Untersuchungen über eine größere Anzahl von Bakterienspezies (619 Taxa) und Multi-Spezies-Biofilmen erfolgen. Nur dann würden allgemeingültige Zusammenhänge klarer werden und grundsätzlich formuliert werden können.

9 Abkürzungsverzeichnis

&	und
2D	zweidimensional
3D	dreidimensional
α	festgelegte Signifikanzgrenze (α -Fehler)
Abb.	Abbildung
AFM	Rasterkraftmikroskop
AG	Aktiengesellschaft
aq.dest./Aqua dest	Aqua destillat
Aufl.	Auflage
Bd.	Band
ca.	circa
CAS	Computer Aided Selling
Corp.	Corporation
dh.	Das heißt
DIN	Deutsche Industrie Norm
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Deutschland
ed.	Editor
eds.	Editors
erg.	Ergänzt(e)
erw.	erweitert(e)
et al.	et alii (und andere)
Fa.	Firma
f.	folgende
ff.	fortfolgende
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
Hg.	Herausgeber
ISO	Internationale Organisation für Normung
Inc.	Incorporated
Nr. / nr.	Nummer
p	errechnete Signifikanzwert
pH	potential Hydrogenii
PK	Probekörper
R_a	arithmetische Mittenrauheit
REM	Rasterelektronenmikroskop
S.	Seite(n)
sog.	Sogenannt

Tab./tab.	Tabelle
u.a.	und andere(s)
überarb.	Überarbeitet(e)
Univ.	Universität
UV	ultraviolettes Licht
z.B.	zum Beispiel
ZrO ₂	Zirkonia, Zirkoniumdioxid-Keramik
[°]°	Grad
%	Prozent
=	gleich
>	größer als
<	kleiner als
bar	SI-Einheit für Druck
°C	Temperatur in Grad Celsius
g	Gramm
h	Stunde
J	Joule
J/m ²	Joule pro Quadratmeter
L / l	Liter
mg	Milligramm
mJ/m ²	Millijoule pro Quadratmeter
ml	Milliliter
mm	Millimeter
nm	Nanometer
Nm	Newtonmeter
Nm/m ²	Newtonmeter pro Quadratmeter
sec.	Sekunden
t/min	Zeit in Minuten angegeben
U/min	Umdrehungen pro Minute
θ	Kontaktwinkel Theta
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
µm ²	Quadratmikrometer

10 Literaturverzeichnis

Aarag Fredheim, Elizabeth G.; Granslo, Hildegunn Norbakken; Flægstad, Trond; Figenschau, Yngve; Rohde, Holger; Sadovskaya, Irina et al., (2011): Staphylococcus epidermidis polysaccharide intercellular adhesin activates complement. In: *FEMS Immunol. Med. Microbiol* 63 (2), S. 269–280.

Abeygunawardana C.; Bush CA.; Cisar JO. (1991): Complete structure of the cell surface polysaccharide of Streptococcus oralis ATCC 10557: a receptor for lectin-mediated interbacterial adherence. In: *Biochemistry*. 30 (26), S. 6528–6540.

Abrahamsson, I.; Berglundh, T.; Lindhe, J. (1998): Soft tissue response to plaque formation at different implant systems. A comparative study in the dog. In: *Clin Oral Implants Res* 9 (2), S. 73–79.

Absolom, D. R.; Lamberti, F. V.; Policova, Z.; Zingg, W.; van Oss, C. J.; Neumann, A. W. (1983): Surface thermodynamics of bacterial adhesion. In: *Appl. Environ. Microbiol* 46 (1), S. 90–97.

Adam, Gerold; Läger, Peter; Stark, Günther (2009): Physikalische Chemie und Biophysik. Mit 51 Tabellen. Fünfte, überarbeitete Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch, S.231-277.

Adell, R.; Lekholm, U.; Rockler, B.; Brånemark, P. I. (1981): A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. In: *Int J Oral Surg* 10 (6), S. 387–416.

Akagawa Y, Satomi K. Nikai H. Tsuru H. (1990): Initial interface between submerged hydroxyapatite-coated titanium alloy implant and mandibular bone after non tapping insertions in monkeys. In: *J Prosthet Dent* (63), S. 559–564.

Al-Ahmad, A.; Wiedmann-Al-Ahmad, M.; Faust, J.; Bachle, M.; Follo, M.; Wolkewitz, M. et al., (2010): Biofilm formation and composition on different implant materials in vivo. In: *J Biomed Mater Res A* 95 (1), S. 101–109.

Albrektsson, T.; Brånemark, P. I.; Hansson, H. A.; Lindström, J. (1981): Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. In: *Acta Orthop Scand* 52 (2), S. 155–170.

Albrektsson, Tomas; Wennerberg, Ann (2004): Oral implant surfaces: Part 1--review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. In: *Int J Prosthodont* 17 (5), S. 536–543.

Albrektsson, T.; Brånemark P.I.; Hansson HA.; Kasemo B.; Larsson K.; Lundström I. et al., (1983): The interface zone of inorganic implants in vivo: titanium implant in the bone. In: *Ann Biomed Eng* (11), S. 1ff.

Al-Hashimi, I.; Levine, M. J. (1989): Characterization of in vivo salivary-derived enamel pellicle. In: *Arch. Oral Biol* 34 (4), S. 289–295.

- Al-Radha, Afya Sahib Diab; Dymock, David; Younes, Charles; O'Sullivan, Dominic (2012): Surface properties of titanium and zirconia dental implant materials and their effect on bacterial adhesion. In: *J Dent* 40 (2), S. 146–153.
- An, Y. H.; Friedman, R. J. (1998): Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. In: *J. Biomed. Mater. Res* 43 (3), S. 338–348.
- Apilanez I, Gutierrez ADiaz M. (1998): Effect of surface materials on initial biofilm development. In: *Biore source Technol* 66 (3), S. 225–230.
- Arciola, C. R.; An, Y. H.; Campoccia, D.; Donati, M. E.; Montanaro, L. (2005): Etiology of implant orthopedic infections: a survey on 1027 clinical isolates. In: *Int J Artif Organs* 28 (11), S. 1091–1100.
- Ardenne, Manfred von (1938): Das Elektronen-Rastermikroskop. Theoretische Grundlagen. In: *Zeitschrift für Physik* 109 (9-10), S. 553–572.
- Arens, S.; Schlegel, U.; Printzen, G.; Ziegler, W. J.; Perren, S. M.; Hansis, M. (1996): Influence of materials for fixation implants on local infection. An experimental study of steel versus titanium DCP in rabbits. In: *J Bone Joint Surg Br* 78 (4), S. 647–651.
- Armstrong, W. G. (1967): The composition of organic films formed on human teeth. In: *Caries Res* 1 (2), S. 89–103.
- Atkins, P.W.; De Paula J. (Hg.) (2001): *Physikalische Chemie*. 3.korr. Weinheim: Wiley-VCH.
- Axelsson, Per (2000): *Diagnosis and risk prediction of dental caries*. Chicago: Quintessence Publ (The Axelsson series on preventive dentistry, 2), S.1-307.
- Bach M. (2009): *Modell zur vitalmikroskopischen Biofilmobservation am Beispiel von Streptococcus mutans*. Dissertation. Hohen Medizinischen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn. Poliklinik für Parodontologie, Zahnerhaltung und Präventive Zahnheilkunde am Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde der Universität Bonn: Direktor: Prof. Dr. Dr. Sören Jepsen, S.18ff. .
- Balamurugan A H S; Rebelo S; Kannan J M F; Ferreira J; Michel G; Balossier S; Rajeswari (2007): Characterization and In Vivo Evaluation of Sol-Gel Derived Hydroxyapatite Coatings on Ti6Al4V Substrates. In: *J Biomed Mater Res B (Journal of biomedical materials research. Part B: Applied Biomaterials)* 81 (2), S. 441–447.
- Barbour, MicheleE; O'Sullivan, DominicJ; Jenkinson, HowardF; Jagger, DaryllC (2007): The effects of polishing methods on surface morphology, roughness and bacterial colonisation of titanium abutments. In: *J Mater Sci Mater Med* 18 (7), S. 1439–1447.
- Barredo, D.; Calleja, F.; Nieto, P.; Hinarejos, J.J; Laurent, G.; Vázquez de Parga A.L. et al., (2008): A Quantum-Stabilized Mirror for Atoms. In: *Advanced Materials* Vol. 20 (Iss. 18), S. 3492.
- Benedittis, A. de; Mattioli-Belmonte, M.; Krajewski, A.; Fini, M.; Ravaglioli, A.; Giardino, R.; Biagini, G. (1999): In vitro and in vivo assessment of bone-implant interface: a comparative study. In: *Int J Artif Organs* 22 (7), S. 516–521.

- Bennick, A.; Cannon, M.; Madapallimattam, G. (1981): Factors affecting the adsorption of salivary acidic proline-rich proteins to hydroxyapatite. In: *Caries Res* 15 (1), S. 9–20.
- Bensing, Barbara A.; Sullam, Paul M. (2002): An accessory sec locus of *Streptococcus gordonii* is required for export of the surface protein GspB and for normal levels of binding to human platelets. In: *Mol. Microbiol* 44 (4), S. 1081–1094.
- Björklund, Marika; Ouwehand, Arthur C.; Forssten, Sofia D. (2011): Improved artificial saliva for studying the cariogenic effect of carbohydrates. In: *Curr. Microbiol.* 63 (1), S. 46–49.
- Bollen, C. M.; Lambrechts, P.; Quirynen, M. (1997): Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. In: *Dent Mater* 13 (4), S. 258–269.
- Bollen, C. M.; Papaioanno, W.; Van, EldereJ; Schepers, E.; Quirynen, M.; van, SteenbergheD (1996): The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. In: *Clin Oral Implants Res* 7 (3), S. 201–211.
- Bos, R.; van der Mei, H. C.; Busscher, H. J. (1999): Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions--its mechanisms and methods for study. In: *FEMS Microbiol. Rev* 23 (2), S. 179–230.
- Boyce, J. F.; Podesta, R. B.; Schürch, S.; Roach, M. R. (1983): Rabbit bladder-surface mucin: a thermodynamic mechanism for inhibiting bacterial adhesion. In: *Urol. Res.* 11 (2), S. 93–95.
- Bradshaw, D. J.; Walker, J. T.; Burger, B.; Gangnus, B.; Marsh, P. D. (2001): In vitro modeling of biofouling of dental composite materials. In: *Meth. Enzymol* 337, S. 416–425.
- Brånemark, P. I.; Hansson BO; Adell R; et al., (1977): Osseointegrated implant in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. In: *Scand J Plast Reconstr surg* (16), S. 1–13.
- Brånemark, Per-Ingvar; Tetsch, Peter (1985): Gewebeintegrierter Zahnersatz. Osseointegration in klinischer Zahnheilkunde. Berlin: Quintessenz-Verl (Quintessenz-Bibliothek), S.1-345.
- Bremer, Felicia; Grade, Sebastian; Kohorst, Philipp; Stiesch, Meike (2011): In vivo biofilm formation on different dental ceramics. In: *Quintessence Int* 42 (7), S. 565–574.
- Brunette, D. M. (1988): The effects of implant surface topography on the behavior of cells. In: *Int J Oral Maxillofac Implants* 3 (4), S. 231–246.
- Buddecke, Eckhart (1981): Biochemische Grundlagen der Zahnmedizin. Berlin: de Gruyter, S.1-192.
- Bundy, K. J.; Butler, M. F.; Hochman, R. F. (1980): An investigation of the bacteriostatic properties of pure metals. In: *J. Biomed. Mater. Res* 14 (5), S. 653–663.

- Buraimoh, Adeniyi Kayode Adedire (2007): Knochenaugmentation im Oberkieferseitenzahnbereich mit unterschiedlichen Ersatzmaterialien und Induktoren - eine klinische histomorphometrische Studie-. Dissertation. Rheinisch-Westfälisch Technischen Hochschule Aachen, Aachen. Medizinische Fakultät, S.109, 5ff.
- Bürgers, Ralf; Gerlach, Till; Hahnel, Sebastian; Schwarz, Frank; Handel, Gerhard; Gosau, Martin (2010a): In vivo and in vitro biofilm formation on two different titanium implant surfaces. In: *Clin Oral Implants Res* 21 (2), S. 156–164.
- Bürgers, Ralf; Hahnel, Sebastian; Reichert, TorstenE; Rosentritt, Martin; Behr, Michael; Gerlach, Till et al., (2010b): Adhesion of *Candida albicans* to various dental implant surfaces and the influence of salivary pellicle proteins. In: *Acta Biomater* 6 (6), S. 2307–2313.
- Bürgers, Ralf; Schneider-Brachert, Wulf; Rosentritt, Martin; Handel, Gerhard; Hahnel, Sebastian (2009): *Candida albicans* adhesion to composite resin materials. In: *Clin Oral Investig* 13 (3), S. 293–299.
- Bürgers, Ralf; Witecy, Corinna; Hahnel, Sebastian; Gosau, Martin (2012): The effect of various topical peri-implantitis antiseptics on *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, and *Streptococcus sanguinis*. In: *Arch. Oral Biol.* 57 (7), S. 940–947.
- Buser, D.; Schenk, R. K.; Steinemann, S.; Fiorellini, J. P.; Fox, C. H.; Stich, H. (1991): Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. In: *J. Biomed. Mater. Res.* 25 (7), S. 889–902.
- Buser D.; Belser C. (1998): Fortschritte und aktuelle Trends in der oralen Implantologie. In: *Schweiz Monatsschr Zahnmed* (108), S. 327–342.
- Busscher, H. J.; Rinastiti, M.; Siswomihardjo, W.; van, derMeiHC (2010): Biofilm formation on dental restorative and implant materials. In: *J Dent Res* 89 (7), S. 657–665.
- Busscher, H. J.; van der Mei, H. C. (1997): Physico-chemical interactions in initial microbial adhesion and relevance for biofilm formation. In: *Adv. Dent. Res.* 11 (1), S. 24–32.
- Busscher, H. J.; Weerkamp, A. H.; van der Mei, H. C.; van Pelt, A. W.; Jong, H. P. de; Arends, J. (1984): Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion. In: *Appl. Environ. Microbiol* 48 (5), S. 980–983.
- Carlén, A.; Rüdiger, S. G.; Loggner, I.; Olsson, J. (2003): Bacteria-binding plasma proteins in pellicles formed on hydroxyapatite in vitro and on teeth in vivo. In: *Oral Microbiol. Immunol* 18 (4), S. 203–207.
- Caspers, Michael (2006): Untersuchung der Sec2-abhängigen Proteintranslokation in nicht-pathogenen Gram-positiven Bakterien. Univ, Jülich, Düsseldorf, S.1-164.
- Caufield, P. W.; Cutter, G. R.; Dasanayake, A. P. (1993): Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. In: *J. Dent. Res.* 72 (1), S. 37–45.

Christersson, C. E.; Dunford, R. G.; Glantz, P. O.; Baier, R. E. (1989): Effect of critical surface tension on retention of oral microorganisms. In: *Scand J Dent Res* 97 (3), S. 247–256.

Costerton, J. W.; Ellis, B.; Lam, K.; Johnson, F.; Khoury, A. E. (1994a): Mechanism of electrical enhancement of efficacy of antibiotics in killing biofilm bacteria. In: *Antimicrob. Agents Chemother* 38 (12), S. 2803–2809.

Costerton, J. W.; Lewandowski, Z.; DeBeer, D.; Caldwell, D.; Korber, D.; James, G. (1994b): Biofilms, the customized microniche. In: *J. Bacteriol* 176 (8), S. 2137–2142.

Cowan, M. M.; Taylor, K. G.; Doyle, R. J. (1986): Kinetic analysis of *Streptococcus sanguis* adhesion to artificial pellicle. In: *J. Dent. Res* 65 (10), S. 1278–1283.

Cowan, M. M.; Taylor, K. G.; Doyle, R. J. (1987): Energetics of the initial phase of adhesion of *Streptococcus sanguis* to hydroxylapatite. In: *J. Bacteriol* 169 (7), S. 2995–3000.

Deetjen P, Speckmann EJ Hescheler J. (Hg.) (2005): Physiologie. 4. Aufl. München-Jena: Elsevier, Urban & Fischer, S.598ff. .

Del Curto, B.; Brunella, M. F.; Giordano, C.; Pedefferri, M. P.; Valtulina, V.; Visai, L.; Cigada, A. (2005): Decreased bacterial adhesion to surface-treated titanium. In: *Int J Artif Organs* 28 (7), S. 718–730.

Denissen, H. W.; Kalk, W.; Nieuport, H. M. de; Maltha, J. C.; van de Hooff, A. (1990): Mandibular bone response to plasma-sprayed coatings of hydroxyapatite. In: *Int J Prosthodont* 3 (1), S. 53–58.

Denissen, H. W.; Veldhuis, H. A.; Rejda, B. V. (1983): Dense apatite ceramic (DAC) implant systems: a preliminary report. In: *J Prosthet Dent* 49 (2), S. 229–233.

Dewhirst, Floyd E.; Chen, Tuste; Izard, Jacques; Paster, Bruce J.; Tanner, Anne C. R.; Yu, Wen-Han et al., (2010): The human oral microbiome. In: *J. Bacteriol* 192 (19), S. 5002–5017.

Dhir, Sangeeta (2013): Biofilm and dental implant: The microbial link. In: *J Indian Soc Periodontol* 17 (1), S. 5–11.

Diaz, Patricia I.; Chalmers, Natalia I.; Rickard, Alexander H.; Kong, Colin; Milburn, Craig L.; Palmer, Robert J.; Kolenbrander, Paul E. (2006): Molecular characterization of subject-specific oral microflora during initial colonization of enamel. In: *Appl. Environ. Microbiol* 72 (4), S. 2837–2848.

Do, T.; Gilbert, S. C.; Klein, J.; Warren, S.; Wade, W. G.; Beighton, D. (2011): Clonal structure of *Streptococcus sanguinis* strains isolated from endocarditis cases and the oral cavity. In: *Mol Oral Microbiol* 26 (5), S. 291–302.

Donath, Karl; Kirsch, A. (1986): Welche Bedeutung hat die primäre Stabilisation von Implantaten für die ossäre Integration während der Einheilphase. In: *Dtsch Zahnärztl Z Implantol* (2), S. 11–17.

Donlan, Rodney M.; Costerton, J. William (2002): Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. In: *Clin. Microbiol. Rev* 15 (2), S. 167–193.

Doyle, R. J.; Rosenberg, Mel (Hg.) (1990): Microbial cell surface hydrophobicity. American Society for Microbiology. Washington, D.C: American Society for Microbiology, S.333-359.

Drake, D. R.; Paul, J.; Keller, J. C. (1999): Primary bacterial colonization of implant surfaces. In: *Int J Oral Maxillofac Implants* 14 (2), S. 226–232.

Earl L. Wehry (University of Tennessee, Department of Chemistry): Molecular Fluorescence and Phosphorescence Spectrometry. In: Frank A. Settle (Hg.): Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry. Har/Cdr (Juni 1997). Upper Saddle River, New Jersey, USA: Prentice-Hall, S. s.509; Chapter 26.

Eichner, Karl; Kappert, Heinrich F.; Borchers, L.; Borchers, Lothar (2005): Zahnärztliche Werkstoffkunde und ihre Verarbeitung. 8. Aufl. Stuttgart: Thieme (Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung, 1), S.1-432.

Eick, S.; Glockmann, E.; Brandl, B.; Pfister, W. (2004): Adherence of *Streptococcus mutans* to various restorative materials in a continuous flow system. In: *J Oral Rehabil* 31 (3), S. 278–285.

Elter, Cornelius; Heuer, Wieland; Demling, Anton; Hannig, Matthias; Heidenblut, Torsten; Bach, Friedrich-Wilhelm; Stiesch-Scholz, Meike (2008): Supra- and subgingival biofilm formation on implant abutments with different surface characteristics. In: *Int J Oral Maxillofac Implants* 23 (2), S. 327–334.

Epigentek Group Inc.: User Guide. CytoX-Violet TM Cell Proliferation/Cytotoxicity Assay Kit.

Faverani, Leonardo P.; Barão, Valentim A. R.; Ramalho-Ferreira, Gabriel; Ferreira, Mayara B.; Garcia-Júnior, Idelmo R.; Assunção, Wirley G. (2013): Effect of bleaching agents and soft drink on titanium surface topography. In: *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* 102 (1), S.22-30.

Ferreirós, C. M.; Carballo, J.; Criado, M. T.; Sáinz, V.; del Río, M. C. (1989): Surface free energy and interaction of *Staphylococcus epidermidis* with biomaterials. In: *FEMS Microbiol. Lett.* 60 (1), S. 89–94.

Flemming, Hans-Curt; Neu, Thomas R.; Wozniak, Daniel J. (2007): The EPS matrix: the "house of biofilm cells". In: *J. Bacteriol* 189 (22), S. 7945–7947.

Flemming, Hans-Curt; Wingender, Jost (2010): The biofilm matrix. In: *Nat. Rev. Microbiol.* 8 (9), S. 623–633.

Freedman, A. M.; Jackson, I. T. (1989): Infections in breast implants. In: *Infect. Dis. Clin. North Am* 3 (2), S. 275–287.

Freytag, Andreas (2004): Adhärenz humanpathogener Staphylokokken auf orthopädischen Implantatmaterialien. Dissertation. Universität Würzburg, Würzburg. Klinik und Poliklinik für Orthopädie, S.1-56ff. .

Fröjd, V.; Paz, L. Chávez de; Andersson, M.; Wennerberg, A.; Davies, J. R.; Svensäter, G. (2011): In situ analysis of multispecies biofilm formation on customized titanium surfaces. In: *Mol Oral Microbiol* 26 (4), S. 241–252.

- Gängler, Peter; Hoffmann, Thomas; Willershausen, Brita (2010): Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie. 3. Aufl. s.l: Georg Thieme Verlag KG. Online verfügbar unter http://ebooks.ciando.com/book/index.cfm/bok_id/503305.
- Gatermann S., Miksits K. (2009): 26 Streptokokken. In: Helmut Hahn, Stefan H. E. Kaufmann, Thomas F. Schulz und Sebastian Suerbaum (Hg.): Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 6. Aufl. Heidelberg: Springer (Springer-Lehrbuch), S. 203–221.
- Gatewood, R. R.; Cobb, C. M.; Killoy, W. J. (1993): Microbial colonization on natural tooth structure compared with smooth and plasma-sprayed dental implant surfaces. In: *Clin Oral Implants Res* 4 (2), S. 53–64.
- Gauckler L.J., Helbig J. Schönholzer U. (2001): Grundzüge der Keramik. ETH Eidgenössische Technische Hochschule Zürich. Zürich. Online verfügbar unter <http://e-collection.ethbib.ethz.ch/show?type=lehr&nr=15>.
- Gil, Francisco Javier; Rodriguez, Ana; Espinar, Eduardo; Llamas, Jose Maria; Padullés, Esteban; Juárez, Antonio (2012): Effect of oral bacteria on the mechanical behavior of titanium dental implants. In: *Int J Oral Maxillofac Implants* 27 (1), S. 64–68.
- Giordano, Carmen; Saino, Enrica; Rimondini, Lia; Pedferri, Maria Pia; Visai, Livia; Cigada, Alberto; Chiesa, Roberto (2011): Electrochemically induced anatase inhibits bacterial colonization on Titanium Grade 2 and Ti6Al4V alloy for dental and orthopedic devices. In: *Colloids Surf B Biointerfaces* 88 (2), S. 648–655.
- Glantz, P. O.; Arnebrant, T.; Nylander, T.; Baier, R. E. (1999): Bioadhesion--a phenomenon with multiple dimensions. In: *Acta Odontol. Scand* 57 (5), S. 238–241.
- Gomes, Ana-Luísá; Montero, Javier (2011): Zirconia implant abutments: a review. In: *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 16 (1), S. e50-5.
- Gray, Jeffrey J. (2004): The interaction of proteins with solid surfaces. In: *Curr. Opin. Struct. Biol* 14 (1), S. 110–115.
- Grivet, M.; Morrier, J. J.; Benay, G.; Barsotti, O. (2000): Effect of hydrophobicity on in vitro streptococcal adhesion to dental alloys. In: *J Mater Sci Mater Med* 11 (10), S. 637–642.
- Gross, U.; Brandes, J.; Strunz, V.; Bab, I.; Sela, J. (1981): The ultrastructure of the interface between a glass ceramic and bone. In: *J. Biomed. Mater. Res.* 15 (3), S. 291–305.
- Grossner-Schreiber, B.; Griepentrog, M.; Haustein, I.; Muller, W. D.; Lange, K. P.; Briedigkeit, H.; Gobel, U. B. (2001): Plaque formation on surface modified dental implants. An in vitro study. In: *Clin Oral Implants Res* 12 (6), S. 543–551.
- Ha, Na Ra; Yang, Zheng Xun; Hwang, Kyu Hong; Kim, Tae Suk; Lee, Jong Kook (2010): Improvement of the stability of hydroxyapatite through glass ceramic reinforcement. In: *J Nanosci Nanotechnol* 10 (5), S. vol3459–3462.
- Hahn, Helmut; Kaufmann, Stefan H. E.; Schulz, Thomas F.; Suerbaum, Sebastian (Hg.) (2009): Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 6. Aufl. Heidelberg: Springer (Springer-Lehrbuch). Online verfügbar unter <http://d-nb.info/998956937/34>, S.175ff. .

- Hahnel, Sebastian; Rosentritt, Martin; Bürgers, Ralf; Handel, Gerhard (2008b): Adhesion of *Streptococcus mutans* NCTC 10449 to artificial teeth: an in vitro study. In: *J Prosthet Dent* 100 (4), S. 309–315.
- Hahnel, Sebastian; Rosentritt, Martin; Handel, Gerhard; Bürgers, Ralf (2008a): Influence of saliva substitute films on initial *Streptococcus mutans* adhesion to enamel and dental substrata. In: *J Dent* 36 (12), S. 977–983.
- Hannig, C.; Hannig, M.; Rehmer, O.; Braun, G.; Hellwig, E.; Al-Ahmad, A. (2007a): Fluorescence microscopic visualization and quantification of initial bacterial colonization on enamel in situ. In: *Arch. Oral Biol* 52 (11), S. 1048–1056.
- Hannig, C.; Spitzmüller, B.; Hannig, M. (2009a): Transaminases in the acquired pellicle. In: *Arch. Oral Biol* 54 (5), S. 445–448.
- Hannig, Christian; Follo, Marie; Hellwig, Elmar; Al-Ahmad, Ali (2010): Visualization of adherent micro-organisms using different techniques. In: *J. Med. Microbiol* 59 (Pt 1), S. 1–7.
- Hannig, Christian; Hannig, Matthias (2009): The oral cavity--a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man. In: *Clin Oral Investig* 13 (2), S. 123–139.
- Hannig, M. (1999a): Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period. In: *Clin Oral Investig* 3 (2), S. 88–95.
- Hannig, M. (1999b): Transmission electron microscopy of early plaque formation on dental materials in vivo. In: *Eur J Oral Sci* 107 (1), S. 55–64.
- Hannig, M. (1997): Transmission electron microscopic study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials. In: *Eur. J. Oral Sci* 105 (5 Pt 1), S. 422–433.
- Hannig, M.; Döbert, A.; Stigler, R.; Müller, U.; Prokhorova, S. A. (2004b): Initial salivary pellicle formation on solid substrates studied by AFM. In: *J Nanosci Nanotechnol* 4 (5), S. 532–538.
- Hannig, M.; Hannig, C. (2007b): Does a dental biofilm, free of bacteria, exist in situ? In: *Journal de Parodontologie & d'Implantation Orale - Article - Vol. 26 - N° 3 du 01/08/2007* Vol.26 (N°3), S. 187–200.
- Hannig, M.; Joiner, A. (2006): The structure, function and properties of the acquired pellicle. In: *Monogr Oral Sci* 19, S. 29–64.
- Hannig, Matthias; Fiebiger, Matthias; Güntzer, Matthias; Döbert, Angela; Zimehl, Ralf; Nekrashevych, Yuriy (2004a): Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. In: *Arch. Oral Biol* 49 (11), S. 903–910.
- Hara, A. T.; Ando, M.; González-Cabezas, C.; Cury, J. A.; Serra, M. C.; Zero, D. T. (2006): Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. In: *J. Dent. Res* 85 (7), S. 612–616.
- Hara, Anderson T.; Zero, Domenick T. (2010): The caries environment: saliva, pellicle, diet, and hard tissue ultrastructure. In: *Dent. Clin. North Am* 54 (3), S. 455–467.

- Hauser-Gerspach, Irmgard; Kulik, Eva M.; Weiger, Roland; Decker, Eva-Maria; Ohle, Christiane von; Meyer, Jürg (2007): Adhesion of *Streptococcus sanguinis* to dental implant and restorative materials in vitro. In: *Dent Mater J* 26 (3), S. 361–366.
- Hay, D. I. (1973): The interaction of human parotid salivary proteins with hydroxyapatite. In: *Arch. Oral Biol* 18 (12), S. 1517–1529.
- Heidemann, Detlef; Becker, Jürgen (Hg.) (1999 [erschienen 2005]): Kariologie und Füllungstherapie. Studienausg. der 4. Aufl. 1999. München [u.a.]: Elsevier, Urban & Fischer (Praxis der Zahnheilkunde, 2).
- Hellwig, Elmar; Klimek, Joachim; Attin, Thomas (2010): Einführung in die Zahnerhaltung. Prüfungswissen Kariologie, Endodontologie und Parodontologie ; mit 60 Tabellen. 5. Aufl. Köln: Dt. Zahnärzte-Verl.
- Hench, L. L.; Paschall, H. A. (1973): Direct chemical bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle. In: *J. Biomed. Mater. Res.* 7 (3), S. 25–42.
- Hermansson, Malte (1999): The DLVO theory in microbial adhesion. In: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 14 (1-4), S. 105–119.
- Hing, K. A.; Best, S. M.; Bonfield, W. (1999): Characterization of porous hydroxyapatite. In: *J Mater Sci Mater Med* 10 (3), S. 135–145.
- Hof, Herbert; Dörries, Rüdiger; Geginat, Gernot (2009): Medizinische Mikrobiologie. [Immunologie, Virologie, Bakteriologie, Mykologie, Parasitologie, klinische Infektiologie, Hygiene]; 237Tabellen. 4.Aufl. Stuttgart: Thieme (Duale Reihe), S.276ff..
- Hoyle, B. D.; Costerton, J. W. (1991): Bacterial resistance to antibiotics: the role of biofilms. In: *Prog Drug Res* 37, S. 91–105.
- Hu, H.; Zhang, W.; Qiao, Y.; Jiang, X.; Liu, X.; Ding, C. (2011): Antibacterial activity and increased bone marrow stem cell functions of Zn-incorporated TiO₂ coatings on titanium. In: *Acta biomaterialia*. 8 (2), S.904-915.
- Huang, Ruijie; Li, Mingyun; Gregory, Richard L. (2011): Bacterial interactions in dental biofilm. In: *Virulence* 2 (5), S. 435–444.
- Humphrey, S. P.; Williamson, R. T. (2001): A review of saliva: normal composition, flow, and function. In: *J Prosthet Dent* 85 (2), S. 162–169.
- Ilschner, Bernhard; Singer, Robert F. (2010): Werkstoffwissenschaften und Fertigungstechnik. Eigenschaften, Vorgänge, Technologien. 5. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch). Online verfügbar unter <http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10406526>, S. 455ff. .
- Jakubovics, N. S.; Kolenbrander, P. E. (2010): The road to ruin: the formation of disease-associated oral biofilms. In: *Oral Dis* 16 (8), S. 729–739.
- Jendresen, M. D.; Glantz, P. O. (1981): Clinical adhesiveness of selected dental materials. An in-vivo study. In: *Acta Odontol. Scand* 39 (1), S. 39–45.
- Jong, H. P. de; van Pelt, A. W.; Arends, J. (1982): Contact angle measurements on human enamel - an in vitro study of influence of pellicle and storage period. In: *J. Dent. Res* 61 (1), S. 11–13.

- Kakaboura, A.; Fragouli, M.; Rahiotis, C.; Silikas, N. (2007): Evaluation of surface characteristics of dental composites using profilometry, scanning electron, atomic force microscopy and gloss-meter. In: *J Mater Sci: Mater Med* 18 (1), S. 155–163.
- Kawahara, H.; Hirabayashi, M.; Shikita, T. (1980): Single crystal alumina for dental implants and bone screws. In: *J. Biomed. Mater. Res.* 14 (5), S. 597–605.
- Kawai, K.; Urano, M. (2001): Adherence of plaque components to different restorative materials. In: *Oper Dent* 26 (4), S. 396–400.
- Kelly, C.; Evans, P.; Ma, J. K.; Bergmeier, L. A.; Taylor, W.; Brady, L. J. et al., (1990): Sequencing and characterization of the 185 kDa cell surface antigen of *Streptococcus mutans*. In: *Arch. Oral Biol.* 35, S. 33S–38S.
- Khalil, Hesham; Williams, Rachel J.; Stenbeck, Gudrun; Henderson, Brian; Meghji, Sajeda; Nair, Sean P. (2007): Invasion of bone cells by *Staphylococcus epidermidis*. In: *Microbes Infect.* 9 (4), S. 460–465.
- Kieswetter, K.; Schwartz, Z.; Dean, D. D.; Boyan, B. D. (1996a): The role of implant surface characteristics in the healing of bone. In: *Crit. Rev. Oral Biol. Med* 7 (4), S. 329–345.
- Kieswetter, K.; Schwartz, Z.; Hummert, T. W.; Cochran, D. L.; Simpson, J.; Dean, D. D.; Boyan, B. D. (1996b): Surface roughness modulates the local production of growth factors and cytokines by osteoblast-like MG-63 cells. In: *J. Biomed. Mater. Res* 32 (1), S. 55–63.
- Kirchhoff, L. V.; Sheagren, J. N. (1985): Epidemiology and clinical significance of blood cultures positive for coagulase-negative staphylococcus. In: *Infect Control* 6 (12), S. 479–486.
- Klemm A. (2009): Untersuchung der bakteriellen Adhäsion auf Silan-Oberflächen. DiSSERTATION. Medizinische Fakultät der Universität Regensburg, Regensburg. Poliklinik für zahnärztliche Prothetik, S. 67ff. .
- Klimek J. (2007): *StuDent-Speichel&Mundgesundheits*. Ein Skript für Studenten zur Examensvorbereitung. 1. Aufl., S. 1–38. Online verfügbar unter http://www.students.de/fileadmin/downloads/klinik/zahnerhaltung/StuDent_Skript.pdf.
- Kocher, Thomas; Langenbeck, Natascha; Rosin, Michael; Bernhardt, Olaf (2002): Methodology of three-dimensional determination of root surface roughness. In: *J. Periodont. Res.* 37 (2), S. 125–131.
- Koeck B, Wagner W. (Hg.) (2004): *Praxis der Zahnheilkunde; Implantologie*. 2. Aufl. München-Jena: Urban&Fischer (13), S. 2-5, 72-78, 131-132ff. .
- Kohal, Ralf J.; Weng, Dietmar; Bächle, Maria; Strub, Jörg R. (2004): Loaded custom-made zirconia and titanium implants show similar osseointegration: an animal experiment. In: *J. Periodontol.* 75 (9), S. 1262–1268.
- Kohal RJ., Weng D. Bächle M. Klaus G. (2003): Zirkonoxid-Implantate unter Belastung. Eine vergleichende histologische, tierexperimentelle Untersuchung. In: *Z Zahnärztliche Implantologie* 19 (2), S. 88–91.

- Kohavi, D.; Klinger, A.; Steinberg, D.; Sela, M. N. (1995): Adsorption of salivary proteins onto prosthetic titanium components. In: *J Prosthet Dent* 74 (5), S. 531–534.
- Kolenbrander, P. E. (2000): Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. In: *Annu. Rev. Microbiol* 54, S. 413–437.
- Kolenbrander, P. E.; Ganeshkumar, N.; Cassels, F. J.; Hughes, C. V. (1993): Coaggregation: specific adherence among human oral plaque bacteria. In: *FASEB J* 7 (5), S. 406–413.
- Kolenbrander, Paul E.; Palmer, Robert J.; Rickard, Alexander H.; Jakubovics, Nicholas S.; Chalmers, Natalia I.; Diaz, Patricia I. (2006): Bacterial interactions and successions during plaque development. In: *Periodontol.* 2000 42, S. 47–79.
- Kondo, W.; Sato, M.; Ozawa, H. (1976): Haemagglutinating activity of *Leptotrichia buccalis* cells and their adherence to saliva-coated enamel powder. In: *Arch. Oral Biol.* 21 (6), S. 363–369.
- Koo, H.; Xiao, J.; Klein, M. I.; Jeon, J. G. (2010): Exopolysaccharides produced by *Streptococcus mutans* glucosyltransferases modulate the establishment of microcolonies within multispecies biofilms. In: *J. Bacteriol* 192 (12), S. 3024–3032.
- Krenn A. (2009): Dem Implantat auf den Zahn gefühlt. Optische 3D-Messtechnik: Qualitätssteigerung durch Form- und Rauheitsmessung. In: *medizin&technik* (06), S. 34–35. Online verfügbar unter <http://medizin-technik.tpk6.de/medizin+technik/iframe/2009006/>.
- Kreth, Jens; Zhang, Yongshu; Herzberg, Mark C. (2008 July): Streptococcal Antagonism in Oral Biofilms: *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus gordonii* Interference with *Streptococcus mutans*. In: *J Bacteriol* 190 (13), S. 4632–4640. Online verfügbar unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2446780/>.
- Kwok D.Y., C.N.C Lam A. Li A. Leung R. Wu E. Mok A.W Neumann (1998): Measuring and interpreting contact angles: a complex issue. In: *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 142 (2-3), S. 219–235.
- Lamont, R. J.; Demuth, D. R.; Davis, C. A.; Malamud, D.; Rosan, B. (1991): Salivary-agglutinin-mediated adherence of *Streptococcus mutans* to early plaque bacteria. In: *Infect. Immun.* 59 (10), S. 3446–3450.
- Lang, Niklaus P.; Berglundh, Tord; Heitz-Mayfield, Lisa J.; Pjetursson, Bjarni E.; Salvi, Giovanni E.; Sanz, Mariano (2004): Consensus statements and recommended clinical procedures regarding implant survival and complications. In: *Int J Oral Maxillofac Implants* 19, (Suppl.) S. 150–154.
- Lang, Niklaus P.; Salvi, Giovanni E.; Huynh-Ba, Guy; Ivanovski, Saso; Donos, Nikolaos; Bosshardt, Dieter D. (2011): Early osseointegration to hydrophilic and hydrophobic implant surfaces in humans. In: *Clin Oral Implants Res* 22 (4), S. 349–356.
- Lehnert, Hendrik; Aulitzky, Walter E. (2006): Innere Medizin - essentials. Intensivkurs zur Weiterbildung ; 481 Tabellen. 4. Aufl. Stuttgart: Thieme (Essentials). Online verfügbar unter <http://www.thieme.de/ebooklibrary/inhalte/3131172940/index.html>, S. 1-1040.

- Lendenmann, U.; Grogan, J.; Oppenheim, F. G. (2000): Saliva and dental pellicle--a review. In: *Adv. Dent. Res* 14, S. 22–28.
- Leonhardt, A.; Dahlen, G. (1995): Effect of titanium on selected oral bacterial species in vitro. In: *Eur. J. Oral Sci* 103 (6), S. 382–387.
- Leonhardt, A.; Renvert, S.; Dahlén, G. (1999): Microbial findings at failing implants. In: *Clin Oral Implants Res* 10 (5), S. 339–345.
- Li, J.; Helmerhorst, E. J.; Leone, C. W.; Troxler, R. F.; Yaskell, T.; Haffajee, A. D. et al., (2004a): Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. In: *J. Appl. Microbiol* 97 (6), S. 1311–1318.
- Li, J.; Helmerhorst, E. J.; Troxler, R. F.; Oppenheim, F. G. (2004b): Identification of in vivo pellicle constituents by analysis of serum immune responses. In: *J. Dent. Res* 83 (1), S. 60–64.
- Lie, T. (1977): Scanning and transmission electron microscope study of pellicle morphogenesis. In: *Scand J Dent Res* 85 (4), S. 217–231.
- Lie, T. (1979): Morphologic studies on dental plaque formation. In: *Acta Odontol. Scand* 37 (2), S. 73–85.
- Lie, T.; Gusberti, F. (1979): Replica study of plaque formation on human tooth surfaces. In: *Acta Odontol. Scand* 37 (2), S. 65–72.
- Liljemark, W. F.; Bloomquist, C. G.; Reilly, B. E.; Bernards, C. J.; Townsend, D. W.; Pennock, A. T.; LeMoine, J. L. (1997): Growth dynamics in a natural biofilm and its impact on oral disease management. In: *Adv. Dent. Res* 11 (1), S. 14–23.
- Lim, Y. J.; Oshida, Y. (2001): Initial contact angle measurements on variously treated dental/medical titanium materials. In: *Biomed Mater Eng* 11 (4), S. 325–341.
- Lima, EmilenaMariaCastorXisto; Koo, Hyun; Vacca, SmithAnneM; Rosalen, PedroLuiz; Del, BelCuryAltairAntoninha (2008): Adsorption of salivary and serum proteins, and bacterial adherence on titanium and zirconia ceramic surfaces. In: *Clin Oral Implants Res* 19 (8), S. 780–785.
- Lindh, Liselott (2002): On the adsorption behaviour of saliva and purified salivary proteins at solid/liquid interfaces. In: *Swed Dent J Suppl* (152), S. 1–57.
- Löffler, Georg; Heinrich, Peter C.; Petrides, Petro E. (2007): Biochemie und Pathobiochemie. 8. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag Heidelberg (Springer-Lehrbuch). Online verfügbar unter <http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10157756>, S. 1-1263.
- Mabboux, Florence; Ponsonnet, Laurence; Morrier, Jean-Jacques; Jaffrezic, Nicole; Barsotti, Odile (2004): Surface free energy and bacterial retention to saliva-coated dental implant materials--an in vitro study. In: *Colloids Surf B Biointerfaces* 39 (4), S. 199–205.
- Marsh, P. D. (2004 May): Dental plaque as a microbial biofilm. In: *Caries Res* 38 (3), S. 204–211.

- Marsh, P. D.; Bradshaw, D. J. (1995): Dental plaque as a biofilm. In: *J. Ind. Microbiol.* 15 (3), S. 169–175.
- Marsh, Philip; Martin, Michael V. (2003): *Orale Mikrobiologie. 60 Tabellen.* Stuttgart: Thieme, S. 1-223.
- Mayhall, C. W.; Butler, W. T. (1976): The carbohydrate composition of experimental salivary pellicles. In: *J. Oral Pathol* 5 (6), S. 358–370.
- McConnell, Marla D.; Liu, Yu; Nowak, Andrew P.; Pilch, Shira; Masters, James G.; Composto, Russell J. (2010): Bacterial plaque retention on oral hard materials: effect of surface roughness, surface composition, and physisorbed polycarboxylate. In: *J Biomed Mater Res A* 92 (4), S. 1518–1527.
- Meghji, S.; Crean, S. J.; Nair, S.; Wilson, M.; Poole, S.; Harris, M.; Henderson, B. (1997): Staphylococcus epidermidis produces a cell-associated proteinaceous fraction which causes bone resorption by a prostanoid-independent mechanism: relevance to the treatment of infected orthopaedic implants. In: *Br. J. Rheumatol* 36 (9), S. 957–963.
- Mei, L.; Ren, Y.; Busscher, H. J.; Chen, Y.; van der Mei, H. C. (2009): Poisson analysis of streptococcal bond-strengthening on saliva-coated enamel. In: *J. Dent. Res* 88 (9), S. 841–845.
- Meier, Roland M.; Pfammatter, Chantal; Zitzmann, Nicola U.; Filippi, Andreas; Kühl, Sebastian (2012): Surface quality after implantoplasty. In: *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 122 (9), S. 714–724.
- Mese, H.; Matsuo, R. (2007): Salivary secretion, taste and hyposalivation. In: *J Oral Rehabil* 34 (10), S. 711–723.
- Michel, Melanie (2010): Untersuchung zur Funktion des Accumulation associated proteins (Aap) bei der Staphylococcus epidermidis (Evans1916) Biofilmbildung. Dissertation. Universität Hamburg, Hamburg. Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften, Fachbereich Biologie, S. 9ff. .
- Milleding, P.; Gerdes, S.; Holmberg, K.; Karlsson, S. (1999): Surface energy of non-corroded and corroded dental ceramic materials before and after contact with salivary proteins. In: *Eur. J. Oral Sci.* 107 (5), S. 384–392.
- Mirth, D. B.; Miller, C. J.; Kingman, A.; Bowen, W. H. (1979): Inhibition of saliva-induced aggregation of Streptococcus mutans by wheat germ agglutinin. In: *Caries Res.* 13 (3), S. 121–131.
- Mistry, Surajit; Kundu, Debabrata; Datta, Someswar; Basu, Debabrata; Soundrapandian, Chidambaram (2011): Indigenous hydroxyapatite coated and bioactive glass coated titanium dental implant system - Fabrication and application in humans. In: *J Indian Soc Periodontol* 15 (3), S. 215–220.
- Möller, B.; Terheyden, H.; Açil, Y.; Purcz, N. M.; Hertrampf, K.; Tabakov, A. et al., (2012): A comparison of biocompatibility and osseointegration of ceramic and titanium implants: an in vivo and in vitro study. In: *Int J Oral Maxillofac Surg* 41 (5), S. 638–645.

- Monroe, Don (2007): Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms. In: *PLoS Biol.* 5 (11), S. e307.
- Müller, Cornelia Katharina; Thorwarth, Michael; Schmidt, Michelle; Schlegel, Karl Andreas; Schultze-Mosgau, Stefan (2011a): Comparative analysis of osseointegration of titanium implants with acid-etched surfaces and different biomolecular coatings. In: *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 112 (6), S. 726–736.
- Müller C.K., Solcher P. Peisker A. Mtsariashvilli M. Schlegel KA. Hildebrand G. Rost J. Liefelth K. Chen J. Schultze-Mosgau S. (2011b): Vergleich der Osseointegration dentaler Zirkonoxidimplantate mit verschiedenen Gewindeparametern und Oberflächentopographien. Comparison of osseointegration of dental zirconium implants with different thread designs as well as surface topographies. In: *ZZI / JDI Journal of Dental Implantology* 27 (4), S. 336–341.
- Müller K.; Krehan S. (2011): In Vitro-Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirksamkeit eines mit Bis[2-(methacryloyloxy)ethyl]phosphat modifizierten Composites gegenüber kariogenen und parodontopathogenen Bakterien. Dissertation. Medizinische Fakultät der Friedrich Schiller Universität Jena, Jena. Institut für Medizinische Mikrobiologie, 112 (6), S. 726-736..
- Murer H, Berger E. G. (2005): Magen-Darm-Trakt. In: Speckmann EJ Hescheler J. Deetjen P (Hg.): Physiologie. 4. Aufl. München-Jena: Elsevier, Urban & Fischer.
- Myers, Eugene N.; Ferris, Robert L. (2007): Salivary Gland Disorders. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 517, Kapitel I, S.1ff.
- Nardo, Luigi de; Raffaini, Giuseppina; Ebramzadeh, Edward; Ganazzoli, Fabio (2012): Titanium oxide modeling and design for innovative biomedical surfaces: a concise review. In: *Int J Artif Organs* 35 (9), S. 629–641.
- Nascimento, Cássio do; Pita, Murillo Sucena; Fernandes, Flávio Henrique Nogueira Carriço; Pedrazzi, Vinícius; Albuquerque Junior, Rubens Ferreira de; Ribeiro, Ricardo Faria (2013): Bacterial adhesion on the titanium and zirconia abutment surfaces. In: *Clin Oral Implants Res.* 25 (3), S.337-343.
- Näser, Karl Heinz; Peschel, Gerd (1990a): Physikalisch-chemische Meßmethoden. 6. Aufl. Leipzig: Dt. Verl. für Grundstoffindustrie.
- Näser, Karl-Heinz; Lempe, Dieter; Regen, Otfried (1990b): Physikalische Chemie für Techniker und Ingenieure. 19. Aufl. Leipzig: Dt. Verl. für Grundstoffindustrie.
- Nassar, U.; Meyer, A. E.; Ogle, R. E.; Baier, R. E. (1995): The effect of restorative and prosthetic materials on dental plaque. In: *Periodontol* 2000 8, S. 114–124.
- Neeser, J. R.; Grafström, R. C.; Woltz, A.; Brassart, D.; Fryder, V.; Guggenheim, B. (1995): A 23 kDa membrane glycoprotein bearing NeuNAc alpha 2-3Gal beta 1-3GalNAc O-linked carbohydrate chains acts as a receptor for Streptococcus sanguis OMZ 9 on human buccal epithelial cells. In: *Glycobiology* 5 (1), S. 97–104.
- Ng, Doreen Y.; Wong, Andrew Y. C.; Liston, Peter N. (2012): Multidisciplinary approach to implants: a review. In: *N Z Dent J* 108 (4), S. 123–128.

- Nienkemper, Manuel; Pauls, Alexander; Ludwig, Björn; Wilmes, Benedict; Drescher, Dieter (2012): Multifunctional use of palatal mini-implants. In: *J Clin Orthod* 46 (11), S. 679-86; quiz 703-4.
- Nobbs, A. H.; Jenkinson, H. F.; Jakubovics, N. S. (2011): Stick to Your Gums: Mechanisms of Oral Microbial Adherence. In: *J. Dent. Res* 90 (11), S. 1271–1278.
- Noguti, Juliana; Oliveira, Flavia de; Peres, Rogério Correa; Renno, Ana Claudia Muniz; Ribeiro, Daniel Araki (2012): The role of fluoride on the process of titanium corrosion in oral cavity. In: *Biometals* 25 (5), S. 859–862.
- Nowak, Izabela (2010): Die knöchernen Einheilung von Zirkon- und Titanimplantaten. Dissertation. Univ, Düsseldorf. Klinik für Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie. Online verfügbar unter <http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=urn:nbn:de:hbz:061-20101012-153835-3>.
- Nyvad, B.; Fejerskov, O. (1987): Scanning electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces in vivo. In: *Scand J Dent Res* 95 (4), S. 287–296.
- O'Brien, J.; Wilson, I.; Orton, T.; Pognan, F. (2000): Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. In: *Eur. J. Biochem.* 267 (17), S. 5421–5426.
- Ofek, I.; Sharon, N. (1990): Adhesins as lectins: specificity and role in infection. In: *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 151, S. 91–113.
- Oh, Tae-Ju; Yoon, Joongkyo; Misch, Carl E.; Wang, Hom-Lay (2002): The causes of early implant bone loss: myth or science? In: *J. Periodontol* 73 (3), S. 322–333.
- Oliveira, Greison Rabelo de; Pozzer, Leandro; Cavalieri-Pereira, Lucas; Moraes, Paulo Hemerson de; Olate, Sergio; Albergaria Barbosa, Jose Ricardo de (2012): Bacterial adhesion and colonization differences between zirconia and titanium implant abutments: an in vivo human study. In: *J Periodontal Implant Sci* 42 (6), S. 217–223.
- O'Toole, G.; Kaplan, H. B.; Kolter, R. (2000): Biofilm formation as microbial development. In: *Annu. Rev. Microbiol.* 54, S. 49–79.
- Özkurt, Zeynep; Kazazoğlu, Ender (2011): Zirconia dental implants: a literature review. In: *J Oral Implantol* 37 (3), S. 367–376.
- Pedersen, A. M.; Bardow, A.; Jensen, S. Beier; Nauntofte, B. (2002): Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. In: *Oral Dis* 8 (3), S. 117–129.
- Piconi, C.; Maccauro, G. (1999): Zirconia as a ceramic biomaterial. In: *Biomaterials* 20 (1), S. 1–25.
- POON, C. (1995): Comparison of surface roughness measurements by stylus profiler, AFM and non-contact optical profiler. In: *Wear* 190 (1), S. 76–88.
- Poortinga, A. T.; Bos, R.; Busscher, H. J. (1999): Measurement of charge transfer during bacterial adhesion to an indium tin oxide surface in a parallel plate flow chamber. In: *J. Microbiol. Methods* 38 (3), S. 183–189.

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

Quirynen, M.; Bollen, C. M.; Papaioannou, W.; Van, EldereJ; van, SteenbergheD (1996): The influence of titanium abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term observations. In: *Int J Oral Maxillofac Implants* 11 (2), S. 169–178.

Quirynen, M.; Bollen, C. M.; Willems, G.; van Steenberghe, D. (1994a): Comparison of surface characteristics of six commercially pure titanium abutments. In: *Int J Oral Maxillofac Implants* 9 (1), S. 71–76.

Quirynen, M.; Marechal, M.; Busscher, H. J.; Weerkamp, A. H.; Darius, P. L.; van Steenberghe, D. (1990): The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque formation. An in vivo study in man. In: *J. Clin. Periodontol* 17 (3), S. 138–144.

Quirynen, M.; van, derMeiHC; Bollen, C. M.; Schotte, A.; Marechal, M.; Doornbusch, G. I. et al., (1993): An in vivo study of the influence of the surface roughness of implants on the microbiology of supra- and subgingival plaque. In: *J Dent Res* 72 (9), S. 1304–1309.

Quirynen, M.; van, derMeiHC; Bollen, C. M.; Van, denBosscheLH; Doornbusch, G. I.; van, SteenbergheD; Busscher, H. J. (1994b): The influence of surface-free energy on supra- and subgingival plaque microbiology. An in vivo study on implants. In: *J Periodontol* 65 (2), S. 162–167.

Quirynen, Marc; Soete, Marc de; van Steenberghe, Daniel (2002): Infectious risks for oral implants: a review of the literature. In: *Clin Oral Implants Res* 13 (1), S. 1–19.

Rams, T. E.; Feik, D.; Slots, J. (1990): Staphylococci in human periodontal diseases. In: *Oral Microbiol. Immunol.* 5 (1), S. 29–32.

Repenning D (2006): Bewertung von Materialien für den implantologischen Einsatz. In: *Implantologie Zeitung* (7), S. 14–19.

Repenning D (2010): Materialempfindlichkeit bei (Titan-)Implantaten-Teil 1. Hg. v. Claus-Peter Ernst Chefredaktion ZMK. Spitta Verlag GmbH & Co. KG. Balingen. Online verfügbar unter <http://www.zmk-aktuell.de/zahnheilkunde/implantologie/story/materialempfindlichkeit-bei-titan-implantaten-teil-1.html>.

Rezwani, K.; Studart, A. R.; Vörös, J.; Gauckler, L. J. (2005): Change of zeta potential of biocompatible colloidal oxide particles upon adsorption of bovine serum albumin and lysozyme. In: *J Phys Chem B* 109 (30), S. 14469–14474.

Rickard, Alexander H.; Gilbert, Peter; High, Nicola J.; Kolenbrander, Paul E.; Handley, Pauline S. (2003): Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms. In: *Trends in Microbiology* 11 (2), S. 94–100.

Rimondini, L.; Fare, S.; Brambilla, E.; Felloni, A.; Consonni, C.; Brossa, F.; Carrassi, A. (1997): The effect of surface roughness on early in vivo plaque colonization on titanium. In: *J Periodontol* 68 (6), S. 556–562.

Rimondini, Lia; Cerroni, Loredana; Carrassi, Antonio; Torricelli, Paola (2002): Bacterial colonization of zirconia ceramic surfaces: an in vitro and in vivo study. In: *Int J Oral Maxillofac Implants* 17 (6), S. 793–798.

Rose, T. P.; Jivraj, S.; Chee, W. (2006): The role of orthodontics in implant dentistry. In: *Br Dent J* 201 (12), S. 753–764.

Rupp, F.; Haupt, M.; Eichler, M.; Doering, C.; Klostermann, H.; Scheideler, L. et al., (2011): Formation and Photocatalytic Decomposition of a Pellicle on Anatase Surfaces. In: *J. Dent. Res.* 19 (1), S. 104-109.

Russell RRB (2009): Bacterial Polysaccharides in Dental Plaque. In: Matthias Ullrich (Hg.): Bacterial polysaccharides. Current innovations and future trends. Norfolk, UK: Caister Acad. Press, S. 143–156.

Rykke, M.; Sønju, T.; Rølla, G. (1990): Interindividual and longitudinal studies of amino acid composition of pellicle collected in vivo. In: *Scand J Dent Res* 98 (2), S. 129–134.

Rykke, M.; Sønju, T.; Skjørland, K.; Rølla, G. (1989): Protein adsorption to hydroxyapatite and to calcium fluoride in vitro and amino acid analyses of pellicle formed on normal enamel and on calcium-fluoride-covered enamel in vivo. In: *Acta Odontol. Scand* 47 (4), S. 245–251.

Salihoglu, Umut; Boynuegri, Duygu; Engin, Doruk; Duman, Ayse Nurcan; Gokalp, Pelin; Balos, Koksall (2011): Bacterial adhesion and colonization differences between zirconium oxide and titanium alloys: an in vivo human study. In: *Int J Oral Maxillofac Implants* 26 (1), S. 101–107.

Scarano, Antonio; Piattelli, Maurizio; Caputi, Sergio; Favero, GianAntonio; Piattelli, Adriano (2004): Bacterial adhesion on commercially pure titanium and zirconium oxide disks: an in vivo human study. In: *J Periodontol* 75 (2), S. 292–296.

Scheie, A. A. (1994): Mechanisms of dental plaque formation. In: *Adv. Dent. Res* 8 (2), S. 246–253.

Schierholz, J. M.; Beuth, J.; König, D.; Nürnberger, A.; Pulverer, G. (1999): Antimicrobial substances and effects on sessile bacteria. In: *Zentralbl. Bakteriologie* 289 (2), S. 165–177.

Schlafer, Sebastian; Raarup, Merete K.; Meyer, Rikke L.; Sutherland, Duncan S.; Dige, Irene; Nyengaard, Jens R.; Nyvad, Bente (2011): pH landscapes in a novel five-species model of early dental biofilm. In: *PLoS ONE* 6 (9), S. e25299.

Schliephake, H.; van den Berghe, P.; Neukam, F. W. (1991): Osseointegration of titanium fixtures in onlay grafting procedures with autogenous bone and hydroxylapatite. An experimental histometric study. In: *Clin Oral Implants Res* 2 (2), S. 56–61.

- Schmidt, C.; Ignatius, A. A.; Claes, L. E. (2001): Proliferation and differentiation parameters of human osteoblasts on titanium and steel surfaces. In: *J. Biomed. Mater. Res.* 54 (2), S. 209–215.
- Schmidt RF, Lang F. (Hg.) (2007): *Physiologie des Menschen*. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Schommer N (2010): Untersuchung zur Interaktion biofilmbildender *Staphylococcus epidermidis* (Winslow und Winslow, 1908) Stämme mit murinen Makrophagen. Dissertation. Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften der Universität Hamburg, Hamburg. Department Biologie, S.1ff. .
- Schroeder, A. (1979): Beschichtetes Hohlzylinderimplantat: bisherige experimentelle und klinische Beobachtungen (Autoreferat). In: *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd* 89 (11), S. 1136–1137.
- Schulte W. (1984): The intraosseous Al₂O₃ (Frialit) Tuebingen Implant. Development status after eight years (I-III). In: *Quintessence* 15 (1), S.1-39.
- Schulze, Jürgen; Sonnenborn, Ulrich; Ölschläger, Tobias (2008): Probiotika. Mikroökologie, Mikrobiologie, Qualität, Sicherheit und gesundheitliche Effekte. 1. Aufl. s.l: Hippokrates. Online verfügbar unter http://ebooks.ciando.com/book/index.cfm/bok_id/503704, S.83ff. .
- Settle, Frank A. (Hg.): *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Har/Cdr (Juni 1997). Upper Saddle River, New Jersey, USA: Prentice-Hall
- Simon, J. P.; Fabry, G. (1991): An overview of implant materials. In: *Acta Orthop Belg* 57 (1), S. 1–5.
- Skovager, Anne; Whitehead, Kathryn; Wickens, David; Verran, Joanna; Ingmer, Hanne; Arneborg, Nils (2013): A comparative study of fine polished stainless steel, TiN and TiN/Ag surfaces: Adhesion and attachment strength of *Listeria monocytogenes* as well as anti-listerial effect. In: *Colloids Surf B Biointerfaces* 109, S. 190–196.
- Slomiany, B. L.; Murty, V. L.; Zdebska, E.; Slomiany, A.; Gwozdziński, K.; Mandel, I. D. (1986): Tooth surface-pellicle lipids and their role in the protection of dental enamel against lactic-acid diffusion in man. In: *Arch. Oral Biol* 31 (3), S. 187–191.
- Soet, J. J. de; Nyvad, B.; Kilian, M. (2000): Strain-related acid production by oral streptococci. In: *Caries Res* 34 (6), S. 486–490.
- Sönju, T.; Glantz, P. O. (1975): Chemical composition of salivary integuments formed in vivo on solids with some established surface characteristics. In: *Arch. Oral Biol* 20 (10), S. 687–691.
- Souza, Júlio C. M.; Ponthiaux, Pierre; Henriques, Mariana; Oliveira, Rosário; Teughels, Wim; Celis, Jean-Pierre; Rocha, Luís A. (2013): Corrosion behaviour of titanium in the presence of *Streptococcus mutans*. In: *J Dent* 41 (6), S.528-534
- Spiekermann, Hubertus; Donath, Karl; Rateitschak, Klaus-Heinrich (1994): *Implantologie*. Stuttgart: Thieme (Farbatlant der Zahnmedizin, 10).

- Steinberg, D.; Sela, M. N.; Klinger, A.; Kohavi, D. (1998): Adhesion of periodontal bacteria to titanium, and titanium alloy powders. In: *Clin Oral Implants Res* 9 (2), S. 67–72.
- Stigler R Roland, Hannig M. (2003): Biochemische Zusammensetzung der in vivo gebildeten Pellikel in verschiedenen Lokalisationen der Mundhöhle. Dissertation. Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferheileunde der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau, Freiburg im Breisgau. Abt. Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie. Online verfügbar unter http://www.freidok.uni-freiburg.de/volltexte/1108/pdf/Dr_Roland_Stigler.pdf.
- Stockhausen, (Prof. Dr.) Norbert (2009): Analyse der Oberflächentopografie von Festkörperoberflächen. Praktikum Sensorik, Fakultät 06 Feinwerk- und Mikrotechnik / Physikalische Technik. Fakultät 06, Feinwerk- und Mikrotechnik / Physikalische Technik, München. Hochschule für Angewandte Wissenschaften FH, München Prof. Dr. Norbert Stockhausen. München, 2009.
- Subramani, Karthikeyan; Jung, Ronald E.; Molenberg, Aart; Hammerle, Christoph HF (2009): Biofilm on dental implants: a review of the literature. In: *Int J Oral Maxillofac Implants* 24 (4), S. 616–626.
- Svensäter, G.; Borgström, M.; Bowden, G. H. W.; Edwardsson, S. (2003): The acid-tolerant microbiota associated with plaque from initial caries and healthy tooth surfaces. In: *Caries Res* 37 (6), S. 395–403.
- Takamatsu, Daisuke; Bensing, Barbara A.; Prakobphol, Akraporn; Fisher, Susan J.; Sullam, Paul M. (2006): Binding of the streptococcal surface glycoproteins GspB and Hsa to human salivary proteins. In: *Infect. Immun* 74 (3), S. 1933–1940.
- Tanner, A.; Maiden, M. F.; Lee, K.; Shulman, L. B.; Weber, H. P. (1997): Dental implant infections. In: *Clin. Infect. Dis* 25 Suppl 2, S. S213-7.
- Taylor, R. L.; Verran, J.; Lees, G. C.; Ward, A. J. (1998): The influence of substratum topography on bacterial adhesion to polymethyl methacrylate. In: *J Mater Sci Mater Med* 9 (1), S. 17–22.
- Teughels, Wim; Van, Assche Nele; Sliepen, Isabelle; Quirynen, Marc (2006): Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. In: *Clin Oral Implants Res* 17 Suppl 2, S. 68–81.
- Thoma, Daniel S.; Jones, Archie A.; Dard, Michel; Grize, Leticia; Obrecht, Marcel; Cochran, David L. (2011): Tissue integration of a new titanium-zirconium dental implant: a comparative histologic and radiographic study in the canine. In: *J. Periodontol* 82 (10), S. 1453–1461.
- Thull, R. (1991): Korrosionseigenschaften mit Titan-Niob-Oxinitrid beschichteter Dentallegierungen. In: *Dtsch Zahnärztl Z* 46 (11), S. 712–717.
- Thylstrup, Anders (1986): Textbook of cariology. Copenhagen: Munksgaard.
- Tjellström, A.; Rosenhall, U.; Lindström, J.; Haller, O.; Albrektsson, T.; Bränemark P.-I. (1983): Five-Year Experience with skin-penetrating Bone-anchored Implants in the temporal Bone. In: *Acta Otolaryngol* 95, S. 568–575.

- Tormo, M. Angeles; Knecht, Erwin; Götz, Friedrich; Lasa, Iñigo; Penadés, José R. (2005): Bap-dependent biofilm formation by pathogenic species of *Staphylococcus*: evidence of horizontal gene transfer? In: *Microbiology (Reading, Engl.)* 151 (Pt 7), S. 2465–2475.
- Tschernin, Maksim (2003): Oberflächeneigenschaften von Zahnrestaurationsmaterialien. Dissertation. Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München, München. Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, S.33ff. .
- Ullrich, Matthias (Hg.) (2009): Bacterial polysaccharides. Current innovations and future trends. Norfolk, UK: Caister Acad. Press.
- Vacca Smith, A. M.; Bowen, W. H. (2000): The effects of milk and kappa-casein on salivary pellicle formed on hydroxyapatite discs in situ. In: *Caries Res* 34 (1), S. 88–93.
- van Brakel, Ralph; Cune, Marco S.; van Winkelhoff, Arie Jan; Putter, Cornelis de; Verhoeven, Jan Willem; van der Reijden, Wil (2011): Early bacterial colonization and soft tissue health around zirconia and titanium abutments: an in vivo study in man. In: *Clin Oral Implants Res* 22 (6), S. 571–577.
- van der Mei, Henny C.; Rustema-Abbing, Minie; Vries, Joop de; Busscher, Henk J. (2008): Bond strengthening in oral bacterial adhesion to salivary conditioning films. In: *Appl. Environ. Microbiol* 74 (17), S. 5511–5515.
- van Dijk, J.; Herkströter, F.; Busscher, H.; Weerkamp, A.; Jansen, H.; Arends, J. (1987): Surface-free energy and bacterial adhesion. An in vivo study in beagle dogs. In: *J. Clin. Periodontol* 14 (5), S. 300–304.
- van Loosdrecht, M. C.; Lyklema, J.; Norde, W.; Schraa, G.; Zehnder, A. J. (1987): The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. In: *Appl. Environ. Microbiol* 53 (8), S. 1893–1897.
- van Oss, Carel Jan (2003): Long-range and short-range mechanisms of hydrophobic attraction and hydrophilic repulsion in specific and aspecific interactions. In: *J. Mol. Recognit* 16 (4), S. 177–190.
- Vaupel P (2007): Funktionen des Magen-Darm-Trakts. In: Lang F. Schmidt RF (Hg.): Physiologie des Menschen. Berlin, Heidelberg: Springer, S. 867–872.
- Verran, J.; Taylor, R. L.; Lees, G. C. (1996): Bacterial adhesion to inert thermoplastic surfaces. In: *J Mater Sci: Mater Med* 7 (10), S. 597–601.
- Volk Raimund (Hg.) (2005): Rauheitsmessung: Theorie und Praxis. Unter Mitarbeit von DIN Deutsches Institut für Normung e.V. Berlin - Wien - Zürich: Beuth Verlag GmbH.
- Volz U. (2003): Metallfreie Rekonstruktion eine Fallbeschreibung. Zirkonoxid-Implantate mit Zirkonoxid-Kronen. Z-Implantate. In: *Z Zahnärztliche Implantologie* 19 (3), S. 176–180.
- Wagner, W. und B. Al-Nawas (2004): Implantatmaterialien und Konstruktionsprinzipien der Implantate aus chirurgischer Sicht. In: Wagner W. Koeck B (Hg.): Praxis der Zahnheilkunde; Implantologie, Bd. 13. 2. Aufl. München-Jena: Urban&Fischer (13), S. 2-5;72-78;131-132.

- Wang, Min Sze; Palmer, Laura B.; Schwartz, Jay D.; Razatos, Anneta (2004): Evaluating protein attraction and adhesion to biomaterials with the atomic force microscope. In: *Langmuir* 20 (18), S. 7753–7759.
- Weber, H.; Pröbster, L.; Geis-Gerstorfer, J. (1992): Titan als prothetischer Werkstoff. In: *Dtsch Zahnärztl Z* (47), S. 473–481.
- Weber, Thomas (2010): *Memorix Zahnmedizin*. 116 Tabellen. 3. Aufl. Stuttgart: Thieme.
- Weerkamp, A. H.; Uyen, H. M.; Busscher, H. J. (1988): Effect of zeta potential and surface energy on bacterial adhesion to uncoated and saliva-coated human enamel and dentin. In: *J. Dent. Res* 67 (12), S. 1483–1487.
- Weerkamp, A. H.; van der Mei, H. C.; Busscher, H. J. (1985): The surface free energy of oral streptococci after being coated with saliva and its relation to adhesion in the mouth. In: *J. Dent. Res* 64 (10), S. 1204–1210.
- Wennerberg, A.; Hallgren, C.; Johansson, C.; Danelli, S. (1998): A histomorphometric evaluation of screw-shaped implants each prepared with two surface roughnesses. In: *Clin Oral Implants Res* 9 (1), S. 11–19.
- Wennerberg, Ann; Sennerby, Lars; Kultje, Christina; Lekholm, Ulf (2003): Some soft tissue characteristics at implant abutments with different surface topography. A study in humans. In: *J. Clin. Periodontol* 30 (1), S. 88–94.
- Wheeler, D. L.; Stokes, K. E.; Hoellrich, R. G.; Chamberland, D. L.; McLoughlin, S. W. (1998): Effect of bioactive glass particle size on osseous regeneration of cancellous defects. In: *J. Biomed. Mater. Res.* 41 (4), S. 527–533.
- Wilmowsky, Cornelius von; Moest, Tobias; Nkenke, Emeka; Stelzle, Florian; Schlegel, Karl Andreas (2013): Implants in bone: Part I. A current overview about tissue response, surface modifications and future perspectives. In: *Oral Maxillofac Surg.*
- Wilmowsky, Cornelius von; Moest, Tobias; Nkenke, Emeka; Stelzle, Florian; Schlegel, Karl Andreas (2013): Implants in bone: Part II. Research on implant osseointegration. Material testing, mechanical testing, imaging and histoanalytical methods. In: *Oral Maxillofac Surg.*
- Yao, Y.; Grogan, J.; Zehnder, M.; Lendenmann, U.; Nam, B.; Wu, Z. et al., (2001): Compositional analysis of human acquired enamel pellicle by mass spectrometry. In: *Arch. Oral Biol* 46 (4), S. 293–303.
- Yao, Yuan; Berg, Eric A.; Costello, Catherine E.; Troxler, Robert F.; Oppenheim, Frank G. (2003): Identification of protein components in human acquired enamel pellicle and whole saliva using novel proteomics approaches. In: *J. Biol. Chem* 278 (7), S. 5300–5308.
- Yeo, In-Sung; Kim, Ha-Young; Lim, Kyung Sub; Han, Jung-Suk (2012): Implant surface factors and bacterial adhesion: a review of the literature. In: *Int J Artif Organs* 35 (10), S. 762–772.

Yoshinari, M.; Oda, Y.; Kato, T.; Okuda, K.; Hirayama, A. (2000): Influence of surface modifications to titanium on oral bacterial adhesion in vitro. In: *J. Biomed. Mater. Res* 52 (2), S. 388–394.

Young, M. P.; Carter, D. H.; Worthington, H.; Korachi, M.; Drucker, D. B. (2001): Microbial analysis of bone collected during implant surgery: a clinical and laboratory study. In: *Clin Oral Implants Res* 12 (2), S. 95–103.

Zeza, Blerina; Pilloni, Andrea (2012): Peri-implant mucositis treatments in humans: a systematic review. In: *Ann Stomatol (Roma)* 3 (3-4), S. 83–89.

Zitzmann, Nicola U.; Abrahamsson, I.; Berglundh, T.; Lindhe, J. (2002): Soft tissue reactions to plaque formation at implant abutments with different surface topography. An experimental study in dogs. In: *J. Clin. Periodontol* 29 (5), S. 456–461.

11 Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. dent. Gerhard Handel für die Bereitstellung von Arbeitsmitteln, des zahntechnischen und des biochemischen Labors der Poliklinik für zahnärztliche Prothetik.

Herrn Prof. Dr. med. dent. Ralf Bürgers danke ich für die Überlassung des Themas und die freundschaftliche und wertvolle Unterstützung bei der praktischen Arbeit, sowie für die Korrektur des schriftlichen Teils und der statistischen Auswertung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.

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

Weiterhin möchte ich mich bei Frau MTA Gudrun Karch und Frau MTA Sibylle Warzecha für die Einweisung und Unterstützung im Labor bedanken.

Ein besonders herzliches Dankeschön gilt meiner Familie, die mir stets zur Seite stand und mich immer unterstützt hat. Für die Ermöglichung meines beruflichen Werdeganges – Danke!

Zuletzt bedanke ich mich sehr bei Nadine Bollerhoff, die mir in meiner Arbeit hilfreich zur Seite stand mich immer wieder motivierte und bedingungslos unterstützte.

Stefan Kreis