

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

***In-vitro*-Fluoridierung von Zahnschmelz
und der Einfluss der Pellikel
– Untersuchung der Reinstoffe Olaflur und Zinnfluorid**

***Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät***

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2021

vorgelegt von: Newsha Najmabadi

geb. am 11.11.1994 in Darmstadt

Tag der Promotion: 13.07.2021
Dekan: Prof. Dr. M.D. Menger
1. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Hannig
2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Karl

Meiner geliebten Mutter gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
1.1	Deutsche Zusammenfassung	1
1.2	Summary	3
2	Einleitung	5
2.1	Fluoride in der Kariesprophylaxe	5
2.2	Wirkmechanismus der Fluoride	6
2.3	Die Pellikel	7
2.4	Die Pellikel und Fluoridierung	8
2.5	Aminfluorid – Octadecyldiamin-dihydrofluorid (Olaflur)	8
2.6	Zinnfluorid.....	9
2.7	Fragestellung und Studienziele	10
3	Material und Methoden	11
3.1	Materialien	11
3.1.1	Octadecyldiamin-dihydrofluorid (Olaflur).....	11
3.1.2	Zinnfluorid	11
3.1.3	Schienenherstellung.....	11
3.1.4	Rinderschmelzprüfkörper.....	12
3.2	Versuchsdurchführung	13
3.2.1	Prüfkörperreinigung.....	13
3.2.2	Probanden	13
3.2.3	<i>In-vitro</i> -Fluoridierung von Zahnschmelz.....	13
3.2.4	<i>In-vitro</i> -Fluoridierung von pellicelbedecktem Zahnschmelz	16
3.2.5	<i>In-vitro</i> -Fluoridierung von Zahnschmelz mit anschließender intraoraler Exposition	16
3.2.6	Rasterelektronenmikroskopische Analyse der Fluoriddeckschichten.....	17
3.2.7	Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDS)	17
3.2.8	Blockface-Imaging-Verfahren.....	18
4	Ergebnisse	19
4.1	<i>In-vitro</i> -Fluoridierung von Zahnschmelz	19
4.1.1	Kontrolle mit Wasser.....	19
4.1.2	<i>In-vitro</i> -Fluoridierung von Zahnschmelz mit 1.000 ppm-haltiger Olaflurlösung	20
4.1.3	<i>In-vitro</i> -Fluoridierung von Zahnschmelz mit 1.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung.....	22
4.1.4	<i>In-vitro</i> -Fluoridierung von Zahnschmelz mit 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung	25

4.1.5	<i>In-vitro</i> -Fluoridierung von Zahnschmelz mit 10.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung	28
4.1.6	Zusammenfassung der <i>in-vitro</i> -Fluoridierungs-Versuchsreihe.....	33
4.2	Einfluss der Pellikel auf die Fluoridierung mit Olaflur	34
4.2.1	3 min-Pellikel und 2 h-Pellikel	35
4.2.2	<i>In-vitro</i> -Fluoridierung von Zahnschmelz mit 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung und anschließender intraoraler Exposition.....	35
4.2.3	<i>In-vitro</i> -Fluoridierung von pellikelbedecktem Zahnschmelz mit 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung.....	37
5	Diskussion.....	40
5.1	Zielsetzung	40
5.2	Diskussion der Methoden.....	40
5.2.1	Herstellung und Bearbeitung der Prüfkörper	40
5.2.2	Probandenselektion	41
5.2.3	Pellikelgewinnung	42
5.2.4	Methodik der Analyse	42
5.3	Diskussion der Ergebnisse.....	43
5.3.1	Kontrollgruppe.....	43
5.3.2	Variation der Konzentration	43
5.3.3	Olaflur und Zinnfluorid.....	44
5.3.4	Vergleich differenter Reinigungsprotokolle.....	45
5.3.5	Assimilation an klinische Verhältnisse mit Olaflur (10.000 ppm).....	45
5.3.6	Vergleich 3 min-Pellikel und 2 h-Pellikel.....	47
5.3.7	Evaluierung des Einflusses des pH-Wertes	47
5.4	Schlussfolgerungen und Ausblick.....	49
6	Literaturverzeichnis.....	50
7	Publikation / Danksagung.....	59
7.1	Publikation	59
7.2	Danksagung.....	59
8	Anhang.....	60
8.1	Abkürzungsverzeichnis	60
8.2	Abbildungsverzeichnis.....	62
8.3	Materialliste	64
9	Lebenslauf.....	65

1 Zusammenfassung

1.1 Deutsche Zusammenfassung

Hintergrund: Die Anwendung von Fluoriden im Alltag gilt als gängige Maßnahme der Kariesprävention. Allerdings ist die genaue Wirkungsweise der Fluoride bis heute noch nicht gänzlich aufgeklärt.

Fragestellung: Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde untersucht, inwieweit sich unter verschiedenen Bedingungen eine homogene, stabile Fluoriddeckschicht auf dem Zahnschmelz generieren lässt und welchen Einfluss die Pellikel auf die Fluoridierung hat.

Methoden: Zur Fluoridierung wurden jeweils 1.000 ppm- und 10.000 ppm-haltige Lösungen aus den Reinstoffen Olaflur bzw. Zinnfluorid hergestellt. Die Visualisierung der generierten Fluoriddeckschichten sowie deren Verteilung erfolgte mittels Rasterelektronenmikroskopie und die Messung des Fluoridgehaltes mittels Energiedispersiver Röntgenspektroskopie. Die 5-minütige Inkubation der bovinen Schmelzprüfkörper mit der jeweiligen Fluoridlösung erfolgte *in-vitro*. Die Untersuchung der Persistenz der generierten Fluoriddeckschicht erfolgte sowohl mittels *in-vitro*- als auch mittels kombinierten *in-vitro*- und *in-situ*-Experimenten.

Im Rahmen der *in-vitro*-Versuchsreihe wurden die Schmelzprüfkörper nach der Fluoridierung unterschiedlich intensiven *in-vitro*-Reinigungsprotokollen mit destilliertem Wasser (5 s, 6 x 5 min, 1 h, 5 min Ultraschallbad, 24 h) unterzogen und miteinander verglichen.

Im Zuge der kombinierten *in-vitro*- und *in-situ*-Experimente wurde mit der 10.000 ppm-haltigen Olaflurlösung der Einfluss der Pellikel auf die Fluoridierung untersucht. Hierbei wurden die Prüfkörper entweder zuerst mit der Olaflurlösung *in-vitro* inkubiert und anschließend für 3 min bzw. 2 h intraoral exponiert oder umgekehrt – zuerst intraoral exponiert und anschließend *in-vitro* mit der Olaflurlösung inkubiert. Um ein Verschlucken überschüssiger Fluoridmengen zu vermeiden, wurden die Prüfkörper vor der intraoralen Exposition 5 s in destilliertem Wasser gereinigt.

Ergebnisse: Unter *in-vitro*-Bedingungen ließ sich mit der 1.000 ppm-haltigen Olaflurlösung bzw. mit der Zinnfluoridlösung keine zufriedenstellende, persistente Fluoriddeckschicht auf dem pellikelfreien Zahnschmelz generieren. Daher wurde die Konzentration auf 10.000 ppm erhöht. Mit dieser Konzentration konnte mit der Olaflurlösung eine stabile und homogene Fluoriddeckschicht auf dem Zahnschmelz etabliert werden. Lediglich nach der 24-stündigen Lagerung in destilliertem Wasser befand sich der Fluoridgehalt unter der Nachweisgrenze. Im Rahmen der Blockface-Imaging-Untersuchung wurde gezeigt, dass es sich bei der generierten Fluoriddeckschicht um Calciumfluoridglobuli handelte. Da bei der Zinnfluoridlösung sowohl mit 1.000 ppm- als auch mit 10.000 ppm-haltiger Lösung keine homogene Fluoriddeckschicht generiert werden konnte und es zudem zu Präzipitationen des Zinnfluorids kam, wurde die Zinnfluoridlösung für weitere Experimente ausgeschlossen. Bei der kombinierten *in-vitro*- und *in-situ*-Experimentreihe zeigten die

Rasterelektronenmikroskopie- und die Energiedispersive Röntgenspektroskopie-Analyse der Prüfkörper, welche erst inkubiert und anschließend intraoral exponiert wurden, eine homogene Calciumfluoridglobuli-Deckschicht mit hohem Fluoridgehalt. Erfolgte allerdings zunächst die intraorale Exposition und anschließend die Inkubation mit der Olafurlösung, war lediglich die Fluoridierung der Prüfkörper mit der 3 min-Pellikel erfolgreich. Auf dem 2 h-Pellikel-bedeckten Zahnschmelz ließ sich kein Fluorid nachweisen.

Schlussfolgerungen: Es gelang lediglich mit der 10.000 ppm-haltigen Olafurlösung stabile Calciumfluoriddeckschichten auf dem pellikelfreien sowie auf dem pellikelbedeckten Zahnschmelz zu etablieren. Die 2 h-Pellikel stellte hingegen eine Barriere für die Generierung einer Calciumfluoriddeckschicht dar. Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die Konzentration, die Frequenz und der Zeitpunkt der Fluoridierung eine wesentliche Rolle für den Fluoridierungserfolg spielen. Die Studienergebnisse zeigen, dass die Olafurlösung gegenüber der Zinnfluoridlösung im Hinblick auf die Etablierung einer Fluoriddeckschicht deutlich überlegen war.

1.2 Summary

Background: Fluorides are commonly used for caries prevention in everyday life. Although the exact mode of action has not been clarified until now.

Question: In the context of this study, it was examined to what extent under different conditions a homogeneous, stable fluoride layer can be generated on enamel. In addition the influence of the pellicle on the fluoridation was investigated.

Methods: For the fluoridation, 1,000 ppm and 10,000 ppm solutions were made of the pure substances olaflur or stannous fluoride. The generated fluoride layers and their distribution were visualized using scanning electron microscopy and the fluoride content was measured using energy-dispersive X-ray spectroscopy. The 5-minute incubation of the enamel specimens with the respective fluoride solution was always carried out *in-vitro*. The persistence of the generated fluoride layer was investigated using *in-vitro* as well as a combination of *in-vitro* and *in-situ* experiments.

As part of the *in-vitro* test series, after fluoridation, the enamel specimens were exposed to different intensive *in-vitro* cleaning protocols with distilled water (5 s, 6 x 5 min, 1 h, 5 min ultrasonic bath, 24 h) and compared with each other.

Within the combined *in-vitro* and *in-situ* experiments, the influence of the pellicle was examined with the 10,000 ppm olaflur solution. Here the enamel specimens were either first incubated *in-vitro* with the olaflur solution and then exposed intraorally for 3 min or 2 h – or vice versa, the specimens were first exposed intraorally and afterwards *in-vitro* incubated with the olaflur solution. In order to avoid swallowing an excess amount of fluoride, the specimens were cleaned in distilled water for 5 s prior to intraoral exposure.

Results: Under *in vitro* conditions, the 1,000 ppm olaflur solution or stannous fluoride solution did not produce a satisfactory, persistent fluoride layer on the pellicle-free tooth enamel. Using a 10,000 ppm concentration of fluoride in the olaflur solution a stable and homogeneous fluoride layer was generated on the tooth enamel. Only after being stored in distilled water for 24 hours the fluoride content was below the detection limit. As part of the blockface imaging it was shown that the generated fluoride cover layer consisted of calcium fluoride globules. Since the stannous fluoride solution could not generate a homogeneous fluoride layer in either a concentration of 1,000 ppm or 10,000 ppm, and because of the precipitation of the stannous fluoride, the stannous fluoride solution was excluded from the combined *in-vitro* and *in-situ* experiments. In the combined *in-vitro* and *in-situ* series of experiments, the scanning electron microscopy (SEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) analysis of the specimens, which were first incubated and then exposed intraorally, showed a homogenous cover layer of globules with a high fluoride content. However, if the intraoral exposure was carried out first and then the incubation with the olaflur solution, only the fluoridation of the specimens with the 3 min pellicle was successful. No fluoride could be detected on the 2 h-pellicle-covered tooth enamel.

Conclusions: It was only possible to establish with the 10,000 ppm olaflur solution stable fluoride layers on the pellicle-free enamel as well as on the pellicle-covered tooth enamel. The 2 h pellicle layer, on the other hand, represented a barrier to the generation of a calcium fluoride layer. The study results show that the concentration, the frequency and the time of the fluoridation play an essential role for the fluoridation's success. The study results show that regarding to the fluoridation success the olaflur solution was superior compared to the stannous fluoride solution.

2 Einleitung

Epidemiologische Untersuchungen der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Jugendzahnpflege zeigen, dass in den letzten Jahrzehnten bundesweit ein deutlicher Rückgang der Kariesprävalenz bei Kindern zu verzeichnen ist [18]. Dabei spielen ein in der Gesellschaft zunehmendes Bewusstsein für die Zahngesundheit und die im Rahmen der Kariesprävention durchgeführten Mundhygienemaßnahmen, Ernährungsberatungen, Fluoridprophylaxen sowie Fissurenversiegelungen eine essentielle Rolle [9, 15, 29, 87, 118]. Trotz dieser Maßnahmen zählt die Karies nach wie vor zu den am weitesten verbreiteten Erkrankungen weltweit und nimmt daher in der zahnmedizinischen Forschung einen hohen Stellenwert ein [81, 103, 126, 132]. Im Sinne der aktuell anerkannten ökologischen Plaquehypothese wird neben der bisherigen symptomatischen Therapie nun ein kausaler Therapieansatz der Karies verfolgt [68, 84]. Demnach rückt die Untersuchung der Pellikel bzw. der Einfluss der Pellikel zunehmend in den Fokus [5, 55, 85, 86, 92, 100, 112, 131]. Die Fluoridierung mit ihren unterschiedlichen Applikationsformen zählt zu den wichtigsten Grundpfeilern der Kariesprävention und wird in verschiedenen Verbindungen, Kombinationspräparaten und Darreichungsformen angewendet [59, 91, 123]. Zahlreiche Studien belegen, dass durch die Anwendung von Fluoriden das Kariesrisiko signifikant gesenkt werden kann [59, 82, 126]. Allerdings sind die genaue Wirkungsweise und der Einfluss der Pellikel auf die Fluoridierung vergleichsweise unerforscht. Petzold et al. untersuchten unter *in-vitro* Bedingungen die Wirkung von Aminfluorid, Natriumfluorid und Natriummonofluorophosphat und beobachteten bei einigen Proben Fluoridniederschläge in Form von Calciumfluoridglobuli auf dem humanen Zahnschmelz [104]. Anlehnend an diese Studie wurde in der vorliegenden Dissertation mit den Reinstoffen Olaflur bzw. Zinnfluorid die Etablierung einer Fluoriddeckschicht auf dem Zahnschmelz, ihre Persistenz sowie der Einfluss der Pellikel auf die Generierung dieser Fluoriddeckschichten untersucht.

2.1 Fluoride in der Kariesprophylaxe

Fluoride sind derzeit aus der modernen Individualprophylaxe nicht wegzudenken und gelten in der Kariesprophylaxe als unverzichtbar [11]. Die Verabreichung von Fluoriden kann entweder topisch oder systemisch erfolgen [57]. Untersuchungen des *US Public Health Service* zeigten bereits im Jahr 1946, dass in Regionen mit einem Trinkwasserfluoridgehalt von circa 1 ppm bei den 12- bis 14-Jährigen eine Kariesreduktion von 50 % zu beobachten war. Daraufhin bestätigten viele Studien, dass eine zusätzliche Fluoridierung des Trinkwassers mit einer Kariesreduktion einhergeht [3, 7, 24, 111]. Darüber hinaus stehen als systemische Fluoridierungsmaßnahmen die Tabletten- und die Speisesalzfluoridierung zur Verfügung [59]. Obwohl diese Form der Fluoridierung sicherlich eine systemische Wirkung besitzt,

geht man heute davon aus, dass die topische Wirkung von größerer Bedeutung ist [32, 57]. Da die Hersteller ihren Produkten unterschiedliche Mengen an Fluorid beifügen, wird generell empfohlen, nur eine Form der Fluoridsupplementierung zu wählen. Auf diese Weise wird das Risiko einer Fluoridakkumulation beim Verbraucher verringert. Die enthaltenen Fluoridmengen der Produkte sind allerdings so gering, dass selbst bei übermäßigem Konsum eine Überdosierung im Sinne einer akuten Intoxikation nicht zu befürchten ist [59].

Neben systemischen Fluoridierungsmaßnahmen werden in der Kariesprophylaxe zahlreiche topische Fluoridierungsmaßnahmen angewendet. In vielen Produkten wie Zahnpasten, Mundspüllösungen, Fluoridgelen und Fluoridlacken wird häufig Natriumfluorid, Natriummonofluorophosphat, Aminfluorid oder Zinnfluorid als wesentlicher Bestandteil verwendet [12, 27, 59]. Da die Fluoridkonzentrationen gebräuchlicher lokaler Kariostatika deutlich höher sind als die der systemischen, sollte ein Verschlucken der angewendeten Mittel unterlassen werden, um eine chronische Überdosierung zu vermeiden [59].

2.2 Wirkmechanismus der Fluoride

Bei der Fluoridierung von Zahnschmelz können zweierlei Mechanismen zum Tragen kommen:

- 1) Bildung von Fluorapatit in oberen Schmelzschichten
- 2) Entstehung einer Calciumfluorid-Deckschicht auf der Zahnoberfläche

Fluorid hat eine ausgeprägte Affinität zum Knochen und zur Zahnhartsubstanz. Die Häufigkeit der Aufnahme und die Bioverfügbarkeit des Fluorids bestimmen die Menge, die sich im Knochen und in der Zahnhartsubstanz anreichern kann. Der Fluorideinbau in den Knochen führt zur Vergrößerung der dortigen Apatitkristalle bei gleichzeitiger Verringerung der Löslichkeit, wodurch die Knochensubstanz gefestigt wird. Hydroxylapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$) bildet den Grundbaustein der Zahnhartsubstanz. Dieses wird bei vorhandenen Fluoridionen – durch den Austausch der OH-Gruppen und dem Einbau jener Fluoridionen in das Kristallgitter – zum deutlich stabileren Fluorapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$) umgewandelt. Da das Fluorapatit bei gleichem pH-Wert ein geringeres Löslichkeitsprodukt als das körpereigene Hydroxylapatit aufweist, besitzt es eine deutlich höhere Beständigkeit und kann so eine Härtung des Zahnschmelzes erzeugen und demnach vor bakteriellen Säureangriffen schützen und das Kariesrisiko reduzieren [31, 116, 117].

Bei einer Versuchsreihe von Øgaard et al. aus dem Jahr 1988 wurden einerseits Haifischzahnschmelz und andererseits humaner Zahnschmelz *in situ* miteinander verglichen. Der Haifischzahnschmelz wies einen Fluoridgehalt von 30.000 ppm auf, wohingegen der humane Zahnschmelz mit einem Fluoridgehalt von 1.000 ppm hauptsächlich aus Hydroxylapatit bestand. Beide Prüfprodukte wiesen kariöse Läsionen auf, wobei die Läsionstiefe beim Haifischzahnschmelz nur geringfügig niedriger war. In einer ergänzenden Studie spülten die Probanden der beiden Gruppen täglich mit einer 0,2%igen

Natriumfluorid-Lösung. Hierbei wurde im humanen Zahnschmelz sogar ein geringerer Mineralverlust als im Haifischzahnschmelz festgestellt [97]. Daher wurde die Hypothese aufgestellt, dass frei verfügbare Fluoridionen in der Zahnumgebung einen weitaus effektiveren Ansatz für die Kariesprävention darstellen als die bereits eingebauten Fluoridionen in der Kristallgitterstruktur [97]. Das hierbei gebildete Calciumfluorid gilt als bedeutender Faktor in der Kariesprävention [109, 127]. Bei einer rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung von fluoridhaltigen Präparaten auf dem Zahnschmelz fiel auf, dass nach lokaler Applikation die Zahnoberfläche mit einem Niederschlag aus kugelförmigen Calciumfluoridglobuli versehen war [120]. Allerdings berücksichtigt die genannte Untersuchung nicht den Einfluss der Pellikel auf die Calciumfluoridglobuli. In der Literatur sind relativ wenige Aufnahmen dieser Calciumfluoridglobuli vorhanden [14, 113]. Für die Bildung von Calciumfluorid stehen zum einen das im Speichel vorhandene Calcium und zum anderen aus dem Zahn gelöstes Calcium zur Verfügung. Die Calciumfluorid-Deckschicht fungiert als eine Art Fluoridspeicher. Sie hemmt Demineralisationsprozesse und fördert die Remineralisation, indem es beim kariogenen Prozess, welcher mit sauren pH-Werten einhergeht, Fluoridionen freisetzt [56, 75]. Die kariesinhibierende Wirkung des Fluorids ist jedoch nicht nur auf die Zahnhartsubstanz beschränkt. Es wurde im Labor nachgewiesen, dass Fluoride die metabolische Aktivität von oralen Streptokokken beeinflussen können. Fluorid beeinträchtigt beispielsweise die Aktivität der Enolase. Durch diesen Eingriff in die Glykolyse wird das Wachstum verschiedener Plaquebakterien gehemmt und somit auch ihre Säureproduktion vermindert [34, 43, 59, 119]. Diese antibakterielle Wirkung konnte in verschiedenen Studien nachgewiesen werden [70, 99, 133]. Auch wenn die antimikrobielle Wirkungsweise der Fluoride noch nicht definitiv geklärt ist, stellt die regelmäßige lokale Anwendung von Fluoriden einen wesentlichen Bestandteil der Kariesprävention dar [59, 99].

2.3 Die Pellikel

Die Grundvoraussetzung für die Entstehung des bakteriellen oralen Biofilms ist zunächst die Ausbildung eines initialen oralen Biofilms – die erstmals im Jahr 1963 von Dawes et al. beschriebene *acquired pellicle* [10, 20, 48, 49]. Bereits wenige Sekunden nach dem Zähneputzen bildet sich durch Adsorption eine nur etwa 10 nm bis 20 nm dicke organische Biopolymerschicht aus Speichelproteinen auf der Zahnoberfläche [48, 131]. Diese homogene, elektronendichte Pellikel – der initiale Biofilm – entsteht, indem funktionelle Gruppen der Speichelproteine und andere Biomakromoleküle aus dem Speichel durch elektrostatische Wechselwirkungen, Van-der-Waals-Kräfte und hydrophobe Wechselwirkungen an Phosphat- und Calcium-Ionen der Zahnoberfläche binden [44, 48]. Die Pellikel ist bakterienfrei und setzt sich aus Proteinen, Glykoproteinen, Lipiden und anderen Makromolekülen der umgebenden Mundflüssigkeit zusammen [41, 48, 131].

Die Pellikel besitzt zahlreiche protektive Eigenschaften, zu denen auch ihre Rolle als sogenannter Lubrikant zählt. Als eine Art Gleitmittel schützt sie die Zahnhartsubstanz sowie die Mukosa vor gegenseitigen Reibungen in Form von Abrasionen und Attritionen [22, 42, 46, 47, 48, 49, 52, 54, 96, 131]. Sie fungiert ebenfalls als Diffusionsbarriere für erosive Noxen und verhindert somit initial den direkten Kontakt zwischen angreifenden Säuren und der Zahnhartsubstanz. Ihre Eigenschaft als semipermeable Membran ermöglicht zudem die Regulierung der Re- und Demineralisationsprozesse von Calcium- und Phosphationen zwischen der Zahnoberfläche und dem Speichel [2,45, 48, 49, 50, 76, 131]. Durch Speichelkomponenten – wie Immunglobulin A, Lysozym, Lactoferrin, Histatine oder Agglutine – weist die Pellikel darüber hinaus antibakterielle Eigenschaften auf [17, 37, 102, 125, 131].

2.4 Die Pellikel und Fluoridierung

Im Rahmen der Kariesprophylaxe ist die Ausbildung einer Calciumfluorid-Deckschicht auf dem Zahnschmelz ein essentieller Wirkmechanismus topischer Fluoridpräparate [16, 77, 59]. Es liegen zahlreiche Studien vor, die bei niedrigeren pH-Werten eine bessere Wirksamkeit der Fluoridlösungen erzielt haben [59, 113]. Scholz et al. veröffentlichten 2019 eine *in-vitro*-Studie, bei der sie jeweils ein saures (pH 4,75) und ein neutrales (pH 7,0) Natriumfluoridgel sowie jeweils ein saures (pH 4,75) und ein neutrales (pH 7,0) Aminfluorid- Natriumfluorid-Gemisch untersuchten. Die Fluoridkonzentration betrug bei allen Gelen 12.500 ppm. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass bei niedrigerem pH-Wert eine höhere Fluoridkonzentration gemessen werden konnte. Die Anwesenheit der Pellikel zeigte keine wesentlichen Unterschiede zu den Proben ohne Pellikel. Es ist lediglich eine geringfügige Tendenz niedrigerer Fluoridwerte bei vorhandener Pellikel zu verzeichnen [113].

2.5 Aminfluorid – Octadecyldiamin-dihydrofluorid (Olaflur)

Der Wirkstoff Olaflur ($C_{27}H_{60}F_2N_2O_3$) zählt zur Stoffgruppe der Aminfluoride und wird seit 1966 zur Vorbeugung von Karies und Parodontitis eingesetzt [40]. Das Aminfluorid nimmt unter den zur Verfügung stehenden Fluoridverbindungen, die sich in der Individualprophylaxe etabliert haben, einen besonderen Stellenwert ein. Da das Olaflur als Tensid wirkt, ist es im Stande, alle Oberflächen in der Mundhöhle sehr gut zu benetzen. Seine Funktion als kationisches Tensid lässt sich durch seinen molekularen Aufbau erklären. Es besteht aus einem hydrophilen polaren protonierten Amin-Anteil mit einem Fluorid als Anion und einer langen hydrophoben unpolaren Alkylgruppe. Dieser Aufbau verleiht dem Olaflur amphiphile Eigenschaften (s. Abb. 1). Die gute Benetzbarkeit mit Aminfluoriden scheint die Bildung einer homogenen Calciumfluoriddeckschicht auf der kompletten Zahnoberfläche zu

unterstützen. Diese Eigenschaft stellt für Aminfluoride einen wesentlichen Vorteil gegenüber anderen Fluoridverbindungen dar, weil die Kontaktzeiten zwischen dem Fluoridpräparat und den Zähnen bei der täglichen Mundhygiene oft kürzer ausfallen als empfohlen [40, 71, 130].



Abb. 1: Strukturformel von Olafur, hydrophiler Amin-Anteil mit Fluorid-Anion (blau), hydrophobe Alkylkette (rot) [130]

2.6 Zinnfluorid

Im Gegensatz zu den organischen Aminfluoriden handelt es sich bei Zinnfluorid (SnF_2) um eine anorganische Fluoridverbindung. Das zweiwertige Zinnkation der Verbindung wirkt zusätzlich hemmend auf die bakterielle Kolonisation [70, 94]. Die Zinnionen haben einen antibakteriellen Effekt und beeinflussen sowohl die Bakterienmembran als auch den bakteriellen Stoffwechsel. Sie verhindern außerdem die Adsorption der Bakterien an die Zahnoberfläche sowie die Kohäsion und die Adhäsion innerhalb des Bakteriennetzwerkes [13, 63, 66, 98, 106, 121, 122]. In der Studie von Kirsch et al. aus dem Jahr 2019 erwies sich vor allem das Zinnfluorid als sehr effektives Präparat zur Reduzierung der initialen bakteriellen Kolonisation [70]. Außerdem lieferten Versuche mit Zinnfluorid aussichtsreiche Ergebnisse im Hinblick auf die Vorbeugung säurebedingter Demineralisationen – bekannt als Erosionen – am Zahnschmelz [1, 30, 67, 110, 128].

Obwohl Zinnionen vielversprechende plaqueinhibierende und anti-erosive Eigenschaften aufweisen, spielt das Zinnfluorid nach wie vor eine eher untergeordnete Rolle in der Individualprophylaxe. Da die Zinnstabilisierung in Zahnpasten für die Hersteller zunächst eine schwierige Herausforderung darstellte, konnten sich andere Fluoridverbindungen auf dem Markt besser durchsetzen [63, 64].

2.7 Fragestellung und Studienziele

Im Rahmen der Kariesprävention ist die Fluoridprophylaxe von großer Bedeutung. Es gibt bereits eine Vielzahl wissenschaftlicher Beiträge über die Wirksamkeit verschiedener Fluoridverbindungen. Allerdings stand dabei bis dato weitestgehend ihre Kariesprotektivität im Vordergrund. In dieser Studie wurde hingegen untersucht, ob die Ausbildung von Fluoriddeckschichten auf dem Zahnschmelz unter verschiedenen Bedingungen erfolgt und welchen Einfluss die Pellikel auf die Etablierung einer Fluoriddeckschicht hat. Als Prüfprodukte dienten Olaflur- und Zinnfluoridlösungen, die im Hinblick auf ihren Fluoridierungseffekt direkt miteinander verglichen werden konnten. Ziel der vorliegenden Dissertation ist es, folgenden Fragestellungen nachzugehen:

- 1) Ist die Generierung einer homogenen Fluoriddeckschicht auf dem Zahnschmelz *in-vitro* möglich?
- 2) Ist die Generierung dieser Fluoriddeckschichten reproduzierbar?
- 3) Sind diese generierten Fluoriddeckschichten persistent?
- 4) Hält die *in-vitro* generierte Fluoriddeckschicht einer intraoralen Exposition stand?
- 5) Ist die Generierung dieser Fluoriddeckschichten auf pellikelbedecktem Zahnschmelz möglich?
- 6) Welchen Einfluss nimmt die Pellikel auf die Generierung dieser Fluoriddeckschichten?

3 Material und Methoden

3.1 Materialien

Im Anhang befindet sich eine Übersicht aller eingesetzten Verbrauchsmaterialien, Geräte und Chemikalien (s. Abschnitt 8.3). Zur Herstellung der verwendeten Lösungen dienten Olaflur und Zinnfluorid als Prüfprodukte. Diese Lösungen wurden steril filtriert und in verschiedenen Konzentrationen hergestellt. Die Konzentrationsangabe des Fluorids erfolgt in der vorliegenden Versuchsreihe stets in ppm (parts per million).

3.1.1 Octadecyldiamin-dihydrofluorid (Olaflur)

Bei dem verwendeten Prüfprodukt Olaflur handelte es sich um eine 33 %ige Lösung, die bei Raumtemperatur einen flüssigen Aggregatzustand aufwies. Zur Herstellung einer Olaflurlösung mit einer Fluoridkonzentration von 10.000 ppm wurden 39,75 g Olaflur mit destilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Diese Olaflurlösung wies bei Raumtemperatur einen pH-Wert von 6,3 auf. In einem weiteren Schritt wurde zudem eine verdünnte Lösung mit einer Fluoridkonzentration von 1.000 ppm hergestellt.

3.1.2 Zinnfluorid

Das Zinnfluorid lag im Gegensatz zum flüssigen Olaflur in fester Pulverform vor. Um eine Zinnfluoridlösung mit einer Fluoridkonzentration von 10.000 ppm herzustellen, wurden 4,12 g Zinnfluorid ad 100 ml mit destilliertem Wasser gelöst. Diese Zinnfluoridlösung wies bei Raumtemperatur einen pH-Wert von 2,51 auf. Im nächsten Schritt wurde eine weitere Lösung mit einer Fluoridkonzentration von 1.000 ppm hergestellt.

3.1.3 Schienenherstellung

Nachdem der Oberkiefer der jeweiligen Probanden mit Alginat abgeformt wurde, erfolgte die Herstellung der Modelle aus Superhartgips Klasse IV. Die individuellen Trageschienen wurden mittels

eines Tiefziehgerätes aus hartelastischen, transparenten Duran®-Folien angefertigt. Die Schienen umfassten jeweils im I. und II. Quadranten den Bereich zwischen dem zweiten Molaren und dem Eckzahn und wurden bukkal mit Perforationen versehen, um dem Befestigungssilikon einen sicheren Halt zu gewähren. Bei dem verwendeten Befestigungssilikon handelte es sich um das A-Silikon President light body. Pro Schiene wurden bis zu sechs Prüfkörper mit der Schmelzseite wangenwärts gerichtet bukkal befestigt (s. Abb. 2).



Abb. 2: Trageschiene mit fixierten Schmelzprüfkörpern, Regio 13-17

3.1.4 Rinderschmelzprüfkörper

Zur Herstellung der bovinen Schmelzprüfkörper wurden die Labialflächen von Rinderfrontzähnen verwendet, welche vom Schlachthof Emil Färber GmbH & Co.KG Zweibrücken zur Verfügung gestellt wurden. Die Lagerung der extrahierten Rinderzähne und der Prüfkörper erfolgte bei 4° C in 0,1%iger Thymollösung. Die Zerteilung der oralen und der labialen Fläche der Rinderzähne erfolgte mithilfe einer Diamanttrennscheibe unter Wasserkühlung. Die Labialflächen wurden mithilfe eines Nassschleif- und Poliergerätes in ihre endgültige Form gebracht. Die Prüfkörper wurden in Rechtecke mit den Dimensionen 4-5 mm x 4-5 mm und einer Dicke von 1-1,5 mm geschliffen. Die Politur der Schmelzoberfläche erfolgte unter ständiger Wasserkühlung schrittweise mit Siliciumcarbid-Schleifpapieren mit unterschiedlichen Körnungen bis zur finalen Körnung von 2500 Grit bei einer Umdrehungszahl von 350 min⁻¹. Diese auf 2500 Grit standardisierte Oberfläche wurde anschließend unter einem binokularen Mikroskop bei 12-facher Vergrößerung zur Beurteilung der Schliffacetten kontrolliert.

3.2 Versuchsdurchführung

3.2.1 Prüfkörperreinigung

Vor ihrer Verwendung wurden alle Prüfkörper einem Reinigungsprotokoll unterzogen, um jegliche Thymollösungsreste und Schleifüberreste zu beseitigen. Dieses sah zunächst die 3-minütige Reinigung mit einer 3%igen Natriumhypochloritlösung vor. Anschließend wurden die Proben 5 min mit fließendem demineralisiertem Wasser in einem Sieb gespült, bis der charakteristische Natriumhypochloritgeruch nicht mehr wahrzunehmen war. Daraufhin wurden sie im Ultraschallbad mit destilliertem Wasser für weitere 5 min gereinigt. Danach wurden die Proben 15 min unter ständigem Schütteln in 70%igem Isopropylalkohol inkubiert. Zum Schluss wurden die Prüfkörper mindestens drei Mal mit destilliertem Wasser gespült und dann bei circa 4° C mindestens sechs Stunden bis maximal drei Tage in destilliertem Wasser gelagert.

3.2.2 Probanden

Die vier Probanden (drei weiblich, einer männlich), die während der Versuchsreihe zwischen 21 und 29 Jahre alt waren, verfügten über ein kariesfreies Gebiss sowie über einen gesunden Zahnhalteapparat. Bei allen Probanden bestanden physiologische Salivationsverhältnisse sowie gesunde Mundschleimhäute. Ausschlusskriterien waren bestehende Allgemeinerkrankungen und eine regelmäßige Medikamenteneinnahme, um eine externe Manipulation der Pellikel möglichst zu vermeiden. Die Zustimmung der Ethikkommission wurde unter der Nummer 238/03 (2016) erteilt.

3.2.3 *In-vitro*-Fluoridierung von Zahnschmelz

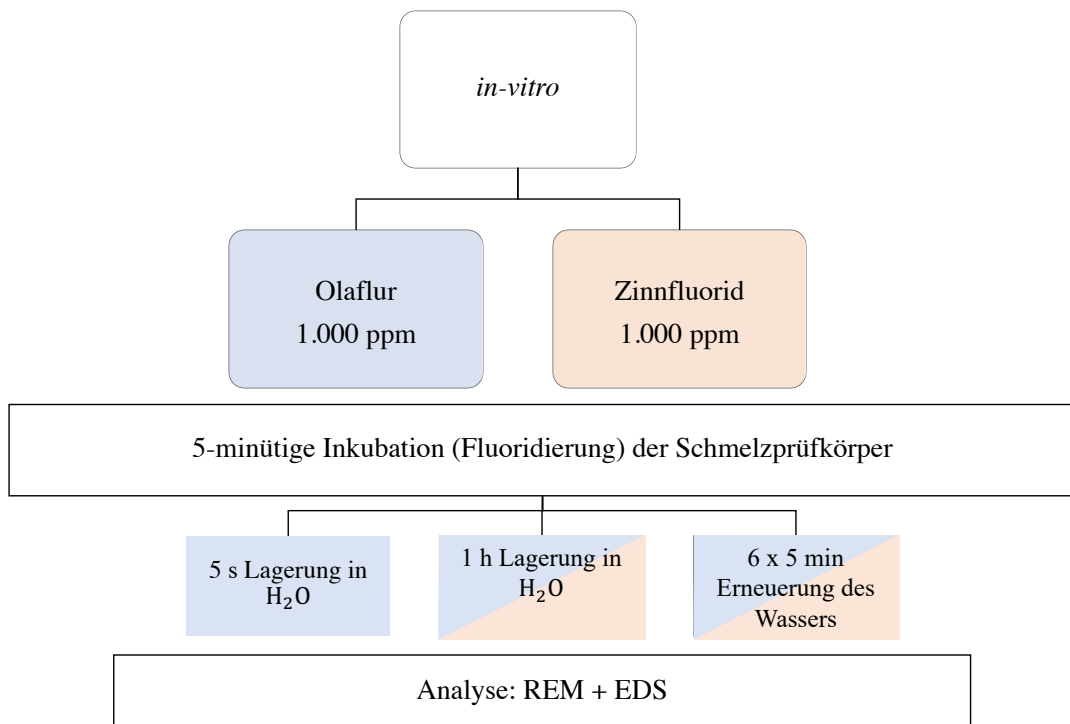
Bei der *in-vitro*-Versuchsreihe wurde zunächst die Bildung von Fluoriddeckschichten mit Olafur (pH 6,3) und Zinnfluorid (pH 2,51) auf pellikelfreien Schmelzprüfkörpern untersucht. Hierzu wurden die gereinigten Prüfkörper mit einem fusselfreien Papiertuch getrocknet und in einer 24-well-Zellkulturplatte positioniert. Anschließend wurde 1 ml der jeweiligen Fluoridlösung – mit 1.000 ppm oder 10.000 ppm Fluoridkonzentration – auf den dazugehörigen Prüfkörper appliziert und für 5 min bei Raumtemperatur inkubiert.

Um die jeweilige Persistenz dieser Fluoriddeckschichten zu untersuchen, wurden die fluoridierten Prüfkörper unterschiedlich intensiven Reinigungsprotokollen zugeteilt, um die Spülvorgänge in der Mundhöhle zu simulieren:

1. 5 s Eintauchen in destilliertes Wasser
2. 1 h Lagerung in destilliertem Wasser ohne Erneuerung
3. 6 x 5 min Lagerung in frischem destilliertem Wasser
4. 5 min Lagerung im Ultraschallbad mit destilliertem Wasser
5. 24 h Lagerung in destilliertem Wasser

Nach Durchführung des jeweiligen Reinigungsprotokolles wurden die Prüfkörper über Nacht luftgetrocknet. Die Visualisierung der generierten Fluoriddeckschichten erfolgte durch das hochauflösende Rasterelektronenmikroskop (REM), während die atomare Analyse mittels Energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDS) durchgeführt wurde. In Abbildung 3 sind die beschriebenen Versuchsabläufe zusammengefasst. Als Kontrollgruppe dienten Prüfkörper, die 5 min in destilliertem Wasser inkubiert wurden.

A



B

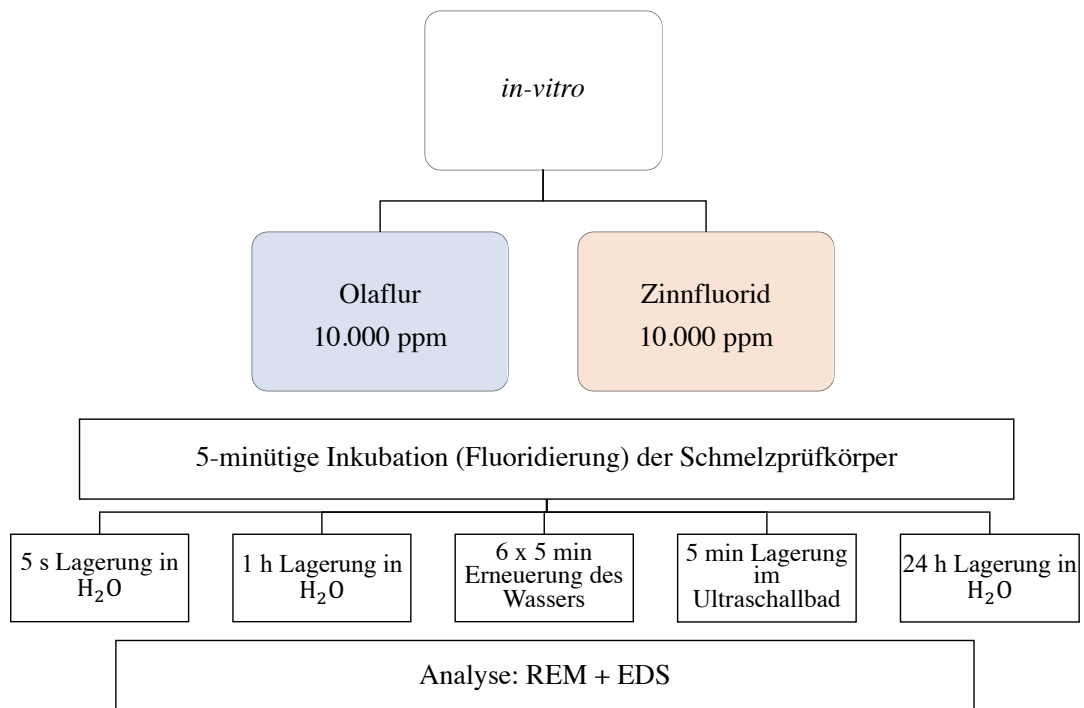


Abb. 3: Schematischer Versuchsablauf der *in-vitro*-Fluoridierung mit 1.000 ppm (A) und 10.000 ppm (B) Fluoridkonzentration

3.2.4 *In-vitro*-Fluoridierung von pellikelbedecktem Zahnschmelz

Die Prüfkörper wurden auf Schienen befestigt und von den vier Probanden entweder für 3 min oder für 2 h oral exponiert. Während des Versuches durften die Probanden weder essen noch trinken. Nach intraoraler Exposition der Prüfkörper wurden die Prüfkörper mit einer Pinzette von der Schiene entfernt. Anschließend erfolgte die 5-minütige Inkubation der Prüfkörper in 10.000 ppm haltiger Olaflurlösung *in-vitro*, indem 1 ml Olaflur auf die Prüfkörperoberfläche appliziert wurde. Die fluoridierten Prüfkörper wurden 5 s in destilliertes Wasser getaucht und über Nacht zum Trocknen gelagert. Abschließend erfolgte eine Analyse durch das REM und die EDS. In Abbildung 4 sind die beschriebenen Versuchsabläufe zusammengefasst. Als Kontrollgruppe dienten Schmelzprüfkörper, die entweder 3 min oder 2 h intraoral exponiert wurden.

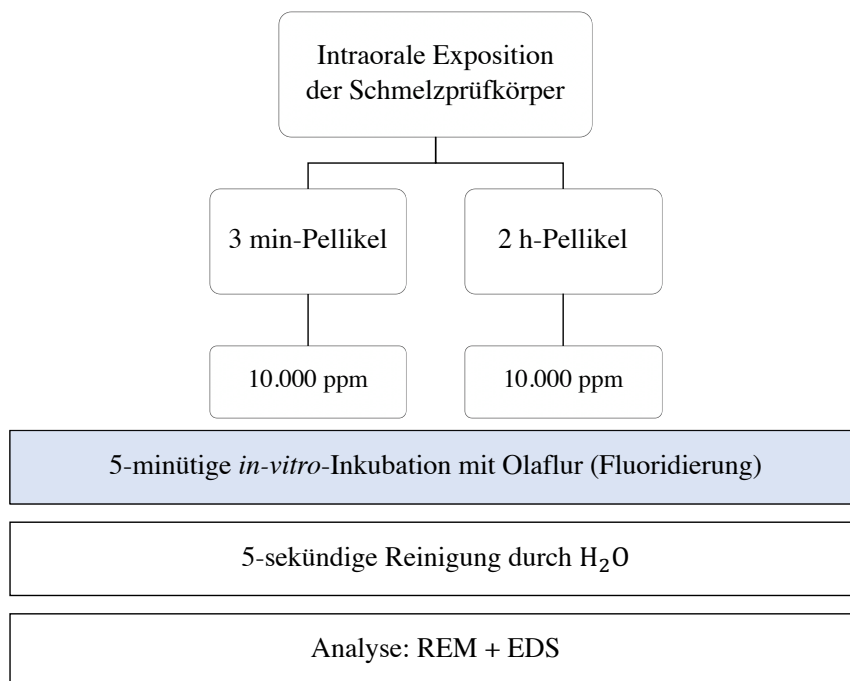


Abb. 4: Versuchsablaufschema der *in-vitro*-Fluoridierung mit Olaflur nach vorheriger intraoraler Exposition der Schmelzprüfkörper

3.2.5 *In-vitro*-Fluoridierung von Zahnschmelz mit anschließender intraoraler Exposition

Die gereinigten Prüfkörper wurden zunächst 5 min mit 1 ml Olaflur (10.000 ppm Fluoridkonzentration) in den Zellkulturplatten inkubiert und 5 s in destilliertes Wasser getaucht. Anschließend wurden die Prüfkörper auf Schienen befestigt und entweder für 3 min oder für 2 h von den vier Probanden oral exponiert und schließlich durch die REM- und die EDS-Analyse ausgewertet. In Abbildung 5 sind die beschriebenen Versuchsabläufe aufgeführt.

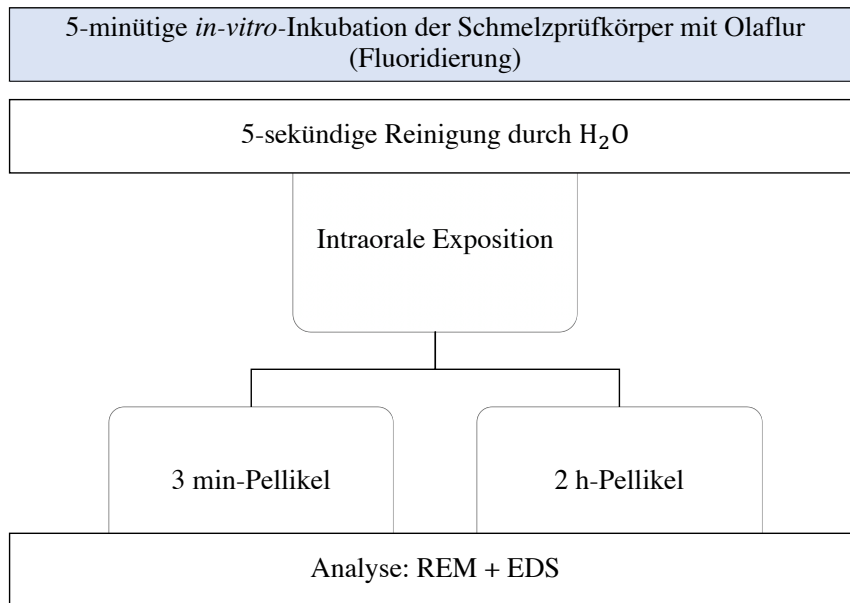


Abb. 5: Versuchsablaufschemata der *in-vitro*-Fluoridierung mit anschließender oraler Exposition

3.2.6 Rasterelektronenmikroskopische Analyse der Fluoriddeckschichten

Zur Darstellung der Morphologie der Prüfkörperoberfläche wurde das REM gewählt. Die behandelten Prüfkörper wurden nach Durchführung der Experimente über Nacht luftgetrocknet. Am nächsten Tag wurden sie mit Hilfe von leitfähigen Haftaufklebern auf Probetellern aus Aluminium für das REM fixiert und unter Vakuum durch einen Sputter-Coater mit Kohlenstoff beschichtet. Das REM ermöglicht Aufnahmen mit 25- bis 20.000-facher Vergrößerung. Die Probenoberflächen wurden bei verschiedenen Vergrößerungen betrachtet und entsprechend digitalfotografisch aufgenommen.

3.2.7 Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDS)

Die EDS dient der Ermittlung der Elementarzusammensetzung einer Probenoberfläche. Sie liefert sowohl eine qualitative als auch eine quantitative Analyse der Elemente der Probe. Sie dient dem Nachweis der vorhandenen Elemente sowie deren quantitativer Zusammensetzung. Der relative Anteil eines Elements bezogen auf die Gesamtmasse wird durch den Massenanteil in Gewichtsprozent (Wt %) beschrieben. Die Untersuchung eines Übersichtsbereiches erfolgte bei einer 5.000-fachen Vergrößerung. Zum Teil wurden auch Detail-Messungen durchgeführt. Bei der Auswertung der EDS-Analyse lag der Fokus dieser Studie auf der Fluoridkonzentration der Proben.

3.2.8 Blockface-Imaging-Verfahren

Zur Betrachtung der Prüfkörper aus der seitlichen Perspektive sowie zur Bewertung der Reichweite der Fluoridierung in die Tiefe wurden die Schmelzprüfkörper mittels des Blockface-Imaging-Verfahrens untersucht. Nach der Fluoridierung und entsprechender Reinigung mit destilliertem Wasser wurden die Schmelzprüfkörper in Araldit eingebettet, indem ein Araldit-Aceton-Gemisch im Verhältnis 1:1 angesetzt wurde. Nach Lagerung über Nacht bei Raumtemperatur wurde das Gemisch in reines Araldit umgesetzt und eine weitere Nacht bei Raumtemperatur gelagert. Nach Auspolymerisierung im Brutschrank bei 60° C für zwei Tage wurde der eingebettete Schmelzprüfkörper mithilfe eines Schleif- und Poliergerätes mit Siliciumcarbid-Schleifpapieren bis zur finalen Körnung von 2500 Grit so in Form geschliffen, dass die Betrachtung und die Analyse des Querschnittes des Prüfkörpers möglich wurden. Abschließend wurde die REM- und die EDS-Analyse durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 *In-vitro*-Fluoridierung von Zahnschmelz

4.1.1 Kontrolle mit Wasser

Zur Kontrolle wurden die drei Schmelzprüfkörper 5 min *in-vitro* in destilliertem Wasser (pH 5,73) inkubiert und anschließend mittels REM und EDS analysiert. Abbildung 6 zeigt beispielhaft das Ergebnis einer solchen Inkubation. Die REM-Aufnahme zeigt eine typische Schmelzoberfläche ohne Auflagerung einer Fluoriddeckschicht mit einem Massenanteil des Fluorids von 0,87 %. Der Fluoridgehalt der drei Proben lag im Mittel bei einem Massenanteil von 0,57 %.

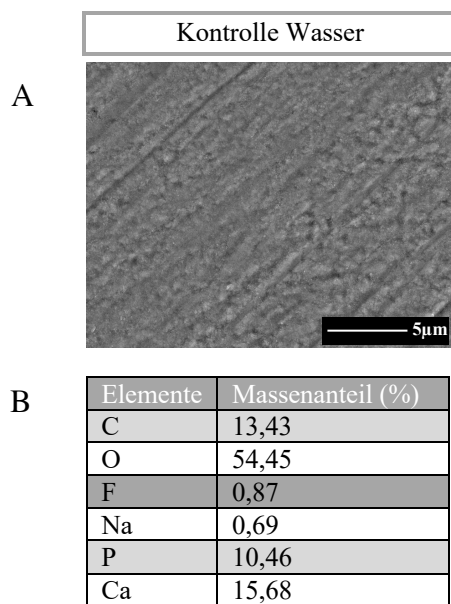


Abb. 6: Kontrolle mit destilliertem Wasser

Boviner Zahnschmelz, 5 min in destilliertem Wasser (pH 5,73) inkubiert

A) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung

B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

4.1.2 *In-vitro*-Fluoridierung von Zahnschmelz mit 1.000 ppm-haltiger Olaflurlösung

Bei der hier verwendeten Lösung handelte es sich um das Aminfluorid Olaflur in einer Konzentration von 1.000 ppm. Die repräsentative REM-Aufnahme in Abbildung 7 zeigt nach der einstündigen Lagerung in destilliertem Wasser kontrastreiche Konglomerate, die auf der mit Aminfluorid behandelten Schmelzoberfläche verstreut sind. Mittels EDS-Analyse wurde Fluorid auf der Schmelzoberfläche detektiert. Nach der intensiveren Waschmethode ist lediglich eine polierte Schmelzoberfläche sichtbar. Dies bestätigt auch die EDS-Analyse. Das 6-malige Austauschen des Wassers im 5-Minuten-Takt wird an dieser Stelle als intensivere Waschmethode deklariert, da durch das Austauschen des Wassers eine zusätzlich einwirkende kinetische Energie mitberücksichtigt werden muss (s. Abb. 7 und 8). Die Übersichtsaufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung in Abbildung 9 zeigt trotz des niedrigen Fluoridgehaltes von 2,10 % eine relativ homogen verteilte Schicht hell leuchtender globulärer Strukturen auf der Schmelzoberfläche. Bei 20.000-facher Vergrößerung sind einzelne Globuli sehr deutlich zu erkennen, welche sich durch ihren Farbkontrast vom Hintergrund abheben. Hierbei wurde jeweils ein Ausschnitt aus dem dunklen Bereich und aus einem der hellen Globuli (s. rot markierter Ausschnitt in Abb. 9) mittels EDS gemessen. Der dunkle Bereich wies einen Fluoridgehalt von 1,11 % auf und unterschied sich nicht wesentlich von den Aufnahmen der Kontrollprüfkörper mit destilliertem Wasser. Bei der EDS-Messung des hellen Globulus wurde hingegen ein Fluoridgehalt von 13,25 % gemessen, was die Annahme erlaubt, dass es sich bei diesen globulären Strukturen um fluoridhaltige Globuli handelt. Insgesamt lag der Fluoridgehalt nach einstündiger Reinigung mit destilliertem Wasser im Mittel bei 2,91 % und bei der intensiveren Waschmethode – dem 6-maligem Austauschen des Wassers im 5-Minuten-Takt – nur bei 0,63 % (s. Abb. 8).

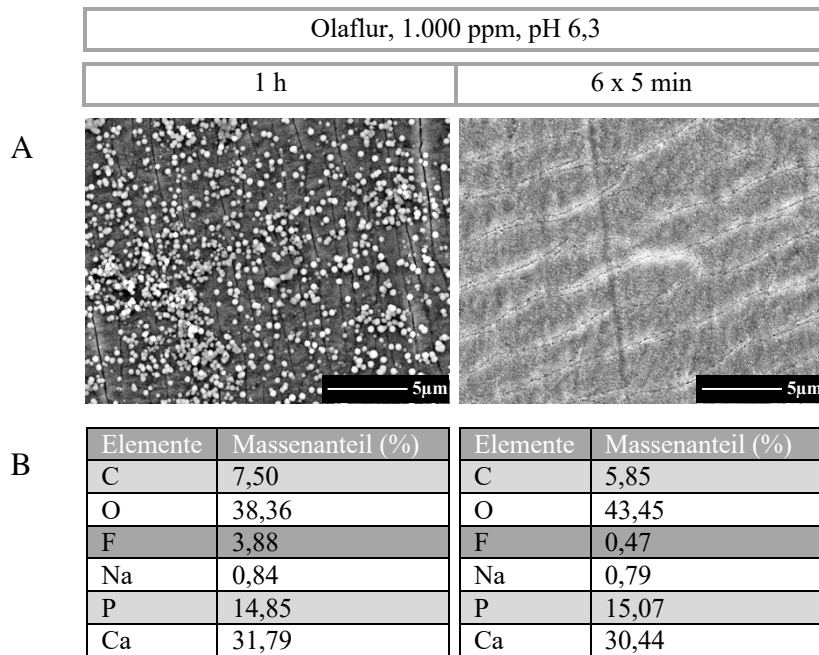
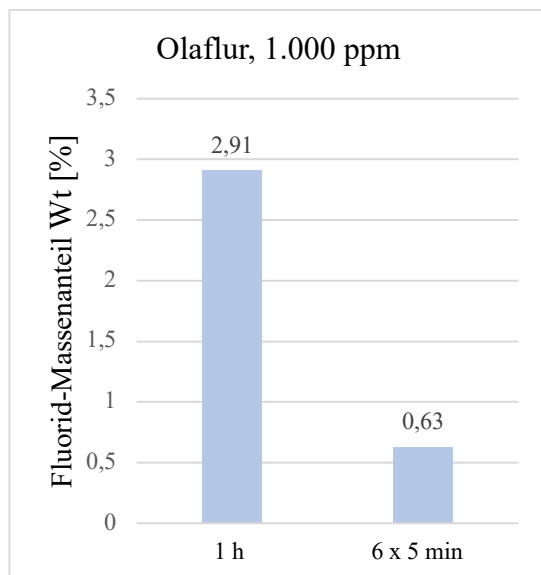


Abb. 7: Ergebnisse der *in-vitro*-Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Olaflurlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (1 h bzw. 6 x 5 min)
 Boviner Zahnschmelz, 5 min inkubiert in 1.000 ppm-haltiger Olaflurlösung (pH 6,3) und anschließender Reinigung für 1 h bzw. 6 x 5 min mit destilliertem Wasser
 A) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung
 B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente



	1 h	6 x 5 min
n	4	2
\bar{X} [%]	2,91	0,63
σ [%]	1,46	0,14

Abb. 8: Mittelwerte des Fluoridgehaltes nach der *in-vitro*-Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Olaflurlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (1 h bzw. 6 x 5 min)
 n: Anzahl der untersuchten Prüfkörper, \bar{X} = Fluorid-Massenanteil-Mittelwert, σ : Standardabweichung

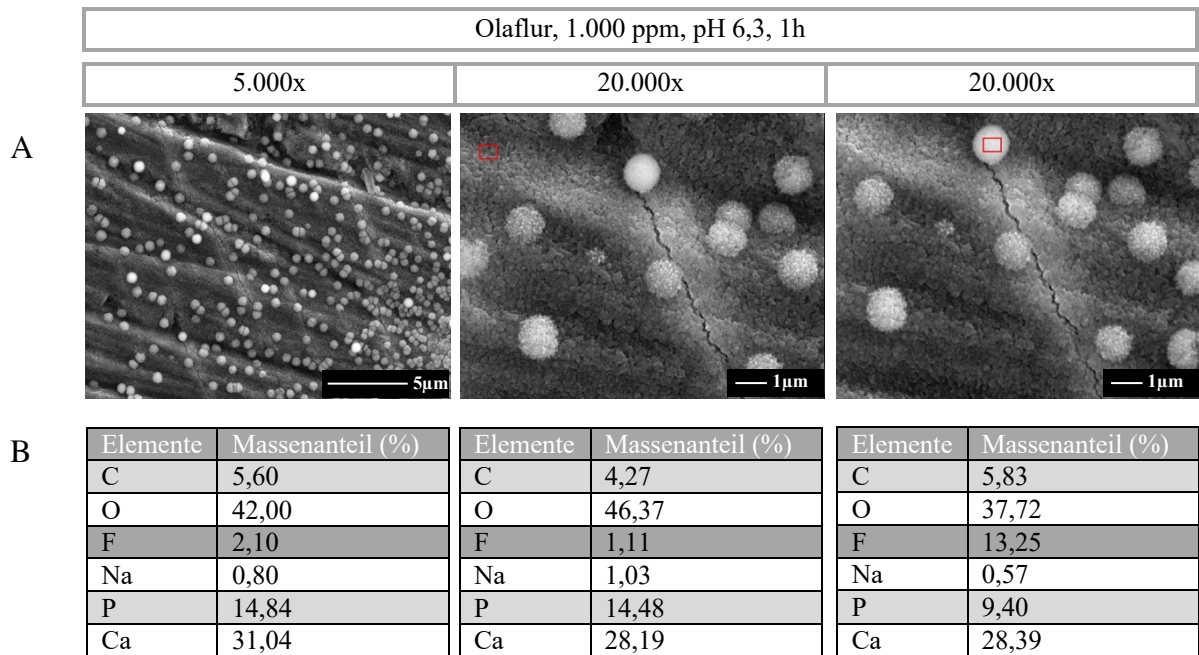


Abb. 9: Detailanalyse der *in-vitro*-Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Olafurlösung nach dem 1 h-Reinigungsprotokoll

Boviner Zahnschmelz, 5 min inkubiert in 1.000 ppm-haltiger Olafurlösung (pH 6,3) und anschließender Reinigung für 1 h mit destilliertem Wasser

A) REM-Aufnahme bei 5.000- und 20.000-facher Vergrößerung, rot markierter Ausschnitt = Messbereich der EDS-Analyse

B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

4.1.3 *In-vitro*-Fluoridierung von Zahnschmelz mit 1.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung

Analog zum *in-vitro*-Versuch mit der 1.000 ppm-haltigen Olafurlösung (s. Abschnitt 4.1.2) wurde der gleiche Versuchsaufbau mit 1.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung durchgeführt und um ein zusätzliches 5-sekündiges Reinigungsprotokoll ergänzt. Die REM-Bildaufnahmen in Abbildung 10 zeigen helle diffus verteilte Konglomerate. Die in der EDS-Analyse kaum nachweisbaren Fluoridwerte geben wieder, dass in dieser Konzentration keine Fluoriddeckschicht auf der Schmelzoberfläche generiert werden konnte (s. Abb. 11 und 12). Allerdings ließ sich nach allen drei Reinigungsprotokollen Zinn nachweisen. Nach 5-sekündiger Reinigung mit destilliertem Wasser betrug der prozentuale Zinn-Massenanteil im Mittel 4,06 %, nach 1-stündiger Lagerung in destilliertem Wasser 5,42 % und schließlich nach dem 6 x 5 min-Reinigungsprotokoll nur noch 2,49 %.

Wie zuvor bei der Olafurlösung sind in den REM-Aufnahmen kontrastreiche Konglomerate auf der Schmelzoberfläche zu sehen. Diese sind allerdings im Vergleich zu den fluoridhaltigen Globuli der Olafur-Versuchsreihe diffus verteilt und zu einzelnen dichteren Agglomeraten organisiert (s. Abb. 10, 12 und 13). Die Detailanalyse der hellen sowie der dunklen Zone ergab ebenfalls nur einen geringen Fluoridgehalt. Der ermittelte Zinngehalt von 8,70 % in der hellen Zone belegt, dass es sich bei dem Zinn-Konglomerat um ausgefallene bzw. nicht sichtbar gelöste Zinnkristalle handeln muss (s. Abb. 12).

Zum Vergleich wurde ebenfalls ein Bereich außerhalb der hellen Zone untersucht. Dieser wies mit 3,14 % Zinn und 0,90 % Fluorid einen deutlich geringeren Massenanteil dieser Elemente auf (s. Abb. 12). Abschließend kann zusammengefasst werden, dass lediglich eine Auflagerung von Zinn-Konglomeraten stattgefunden hat und die Generierung einer Fluoridschicht in dieser Versuchsreihe fehlgeschlagen ist. In Abbildung 13 ist eines dieser hellen Zinn-Konglomerate bei 20.000-facher Vergrößerung zur Übersicht dargestellt.

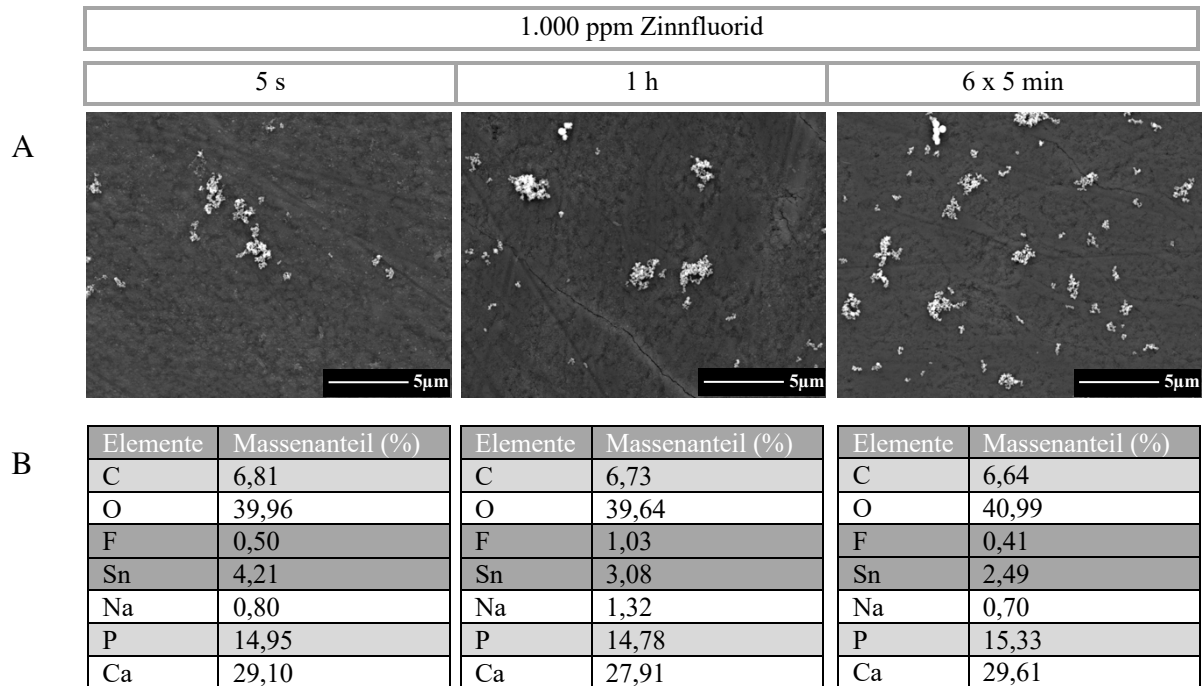
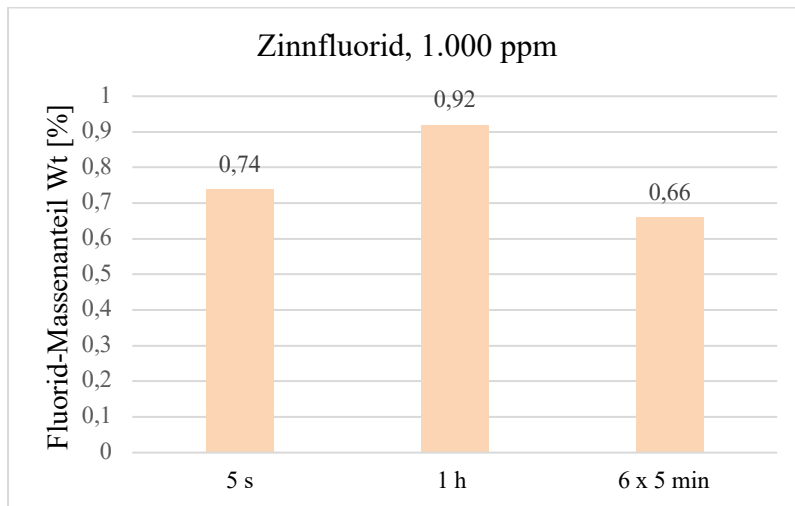


Abb. 10: Ergebnisse der *in-vitro*-Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 s, 1 h bzw. 6 x 5 min)

Boviner Zahnschmelz, 5 min inkubiert in 1.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung (pH 2,51) mit anschließender Reinigung für 5 s, 1 h oder 6 x 5 min mit destilliertem Wasser

A) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung

B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente



	5 s	1 h	6 x 5 min
n	2	4	4
\bar{X} [%]	0,74	0,92	0,66
σ [%]	0,24	0,37	0,28

Abb. 11: Mittelwerte der *in-vitro*-Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 s, 1 h bzw. 6 x 5 min)

n: Anzahl der untersuchten Prüfkörper, \bar{X} = Fluorid-Massenanteil-Mittelwert, σ : Standardabweichung

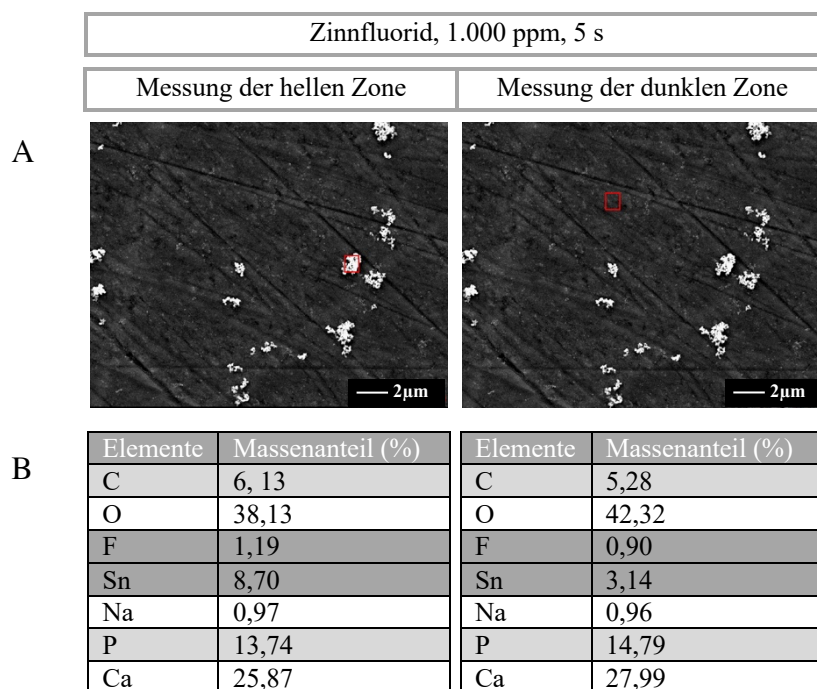


Abb. 12: Detailanalyse der *in-vitro*-Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung nach dem 5 s-Reinigungsprotokoll, EDS-Messung der hellen und dunklen Zone

Boviner Zahnschmelz, 5 min inkubiert in 1.000 ppm-haltiger Olafurlösung (pH 6,3) und anschließender Reinigung für 5 s mit destilliertem Wasser

A) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung, rot markierter Ausschnitt = Messbereich der EDS-Analyse

B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

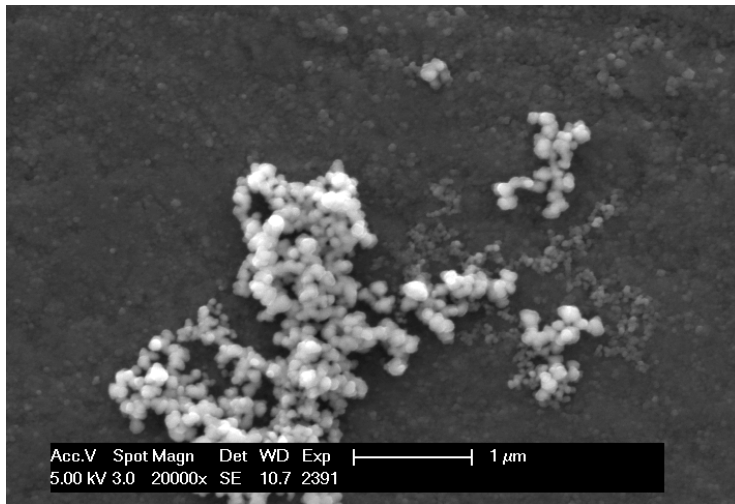


Abb. 13: REM-Aufnahme eines Prüfkörpers bei 20.000-facher Vergrößerung nach *in-vitro*-Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung und Durchführung des 5 s-Reinigungsprotokolls

4.1.4 *In-vitro*-Fluoridierung von Zahnschmelz mit 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung

Um eine bessere Fluoridierung des Zahnschmelzes zu erzielen, wurde die Konzentration der Lösung um das 10-fache erhöht. Die Prüfkörper wurden mit einer 10.000 ppm-haltigen Olafurlösung 5 min inkubiert und durchliefen die gleichen Waschschrte wie zuvor in Abschnitt 4.1.3 beschrieben (s. Abb. 14). Hier konnte nach der 5-sekündigen Reinigung mit destilliertem Wasser durchschnittlich ein Fluoridgehalt von 10,64 % ermittelt werden (s. Abb. 17). Die in Abbildung 15 dargestellte REM-Aufnahme zeigt unter 20.000-facher Vergrößerung eine dichte homogene Verteilung kugelförmiger Globuli auf der Schmelzoberfläche. Da diese generierte Fluoriddeckschicht eine sehr gute Persistenz gegenüber der einstündigen Lagerung und dem 6-maligen Austauschen des Wassers im 5-Minuten-Takt aufwies, wurden zwei weitere Reinigungsmethoden ergänzt (vgl. Abb. 16 und 17). Dies war einerseits die 5-minütige Lagerung der Prüfkörper im Ultraschallbad und andererseits das Verbleiben dieser für 24 h in destilliertem Wasser. Nach Reinigung im Ultraschallbad war weiterhin eine Globuli-Deckschicht sichtbar und ebenso blieben die Fluoridwerte nahezu unverändert hoch. Lediglich die 24-stündige Reinigung mit destilliertem Wasser hinterließ eine globulifreie Schmelzoberfläche. Die EDS-Analyse bestätigte mit einem Fluoridgehalt von 0,83 % im Mittel, dass die Fluoriddeckschicht in diesem Fall nicht persistieren konnte (s. Abb. 17).

Die Erhöhung der Fluoridkonzentration erwies sich als ergebnisreiche Maßnahme. Sie erwirkte eine viel dichtere Auflagerung der fluoridhaltigen Globuli, welche so umfangreich verteilt waren, dass keine blanke Schmelzoberfläche mehr zu erkennen war (s. Abb. 15). Außerdem erwies sich diese generierte Fluoriddeckschicht als ausgesprochen persistent gegenüber den Reinigungsprotokollen (5 s, 1 h, 6 x 5 min, 5 min Ultraschallbad).

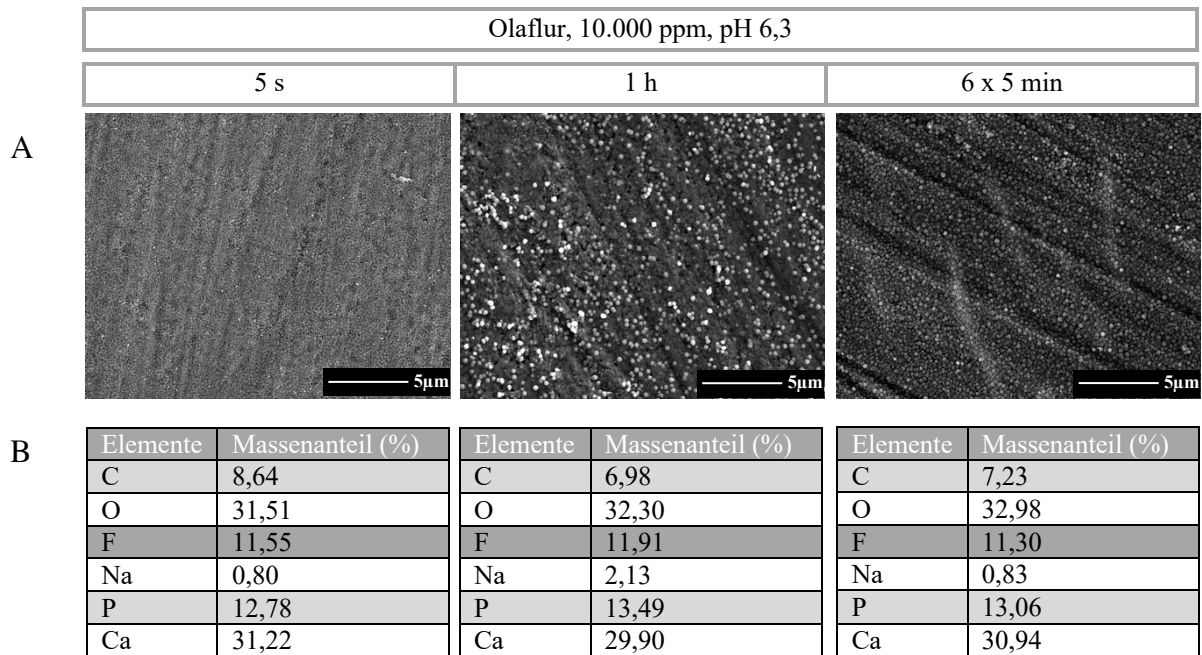


Abb. 14: Ergebnisse der *in-vitro*-Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 s, 1 h bzw. 6 x 5 min)

Boviner Zahnschmelz, 5 min inkubiert in 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung (pH 6,3) und anschließender Reinigung für 5 s, 1 h oder 6 x 5 min mit destilliertem Wasser

A) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung

B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

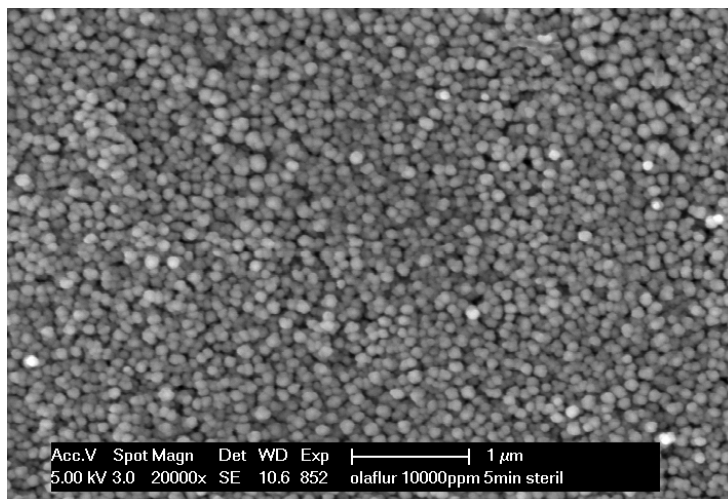


Abb. 15: REM-Aufnahme, Globuli-Deckschicht bei 20.000-facher Vergrößerung

Boviner Zahnschmelz, 5 min inkubiert in 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung (pH 6,3) nach 5-sekündiger Reinigung mit destilliertem Wasser

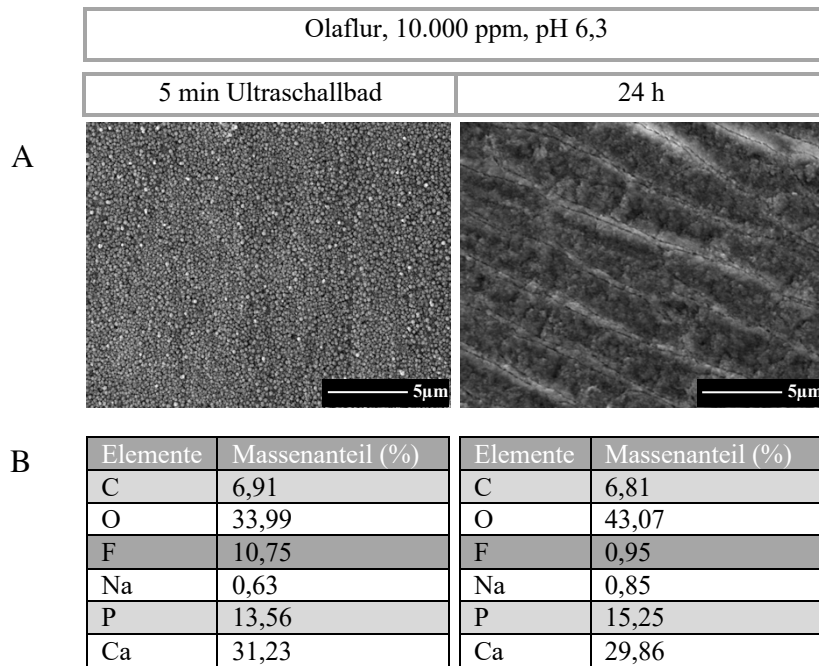
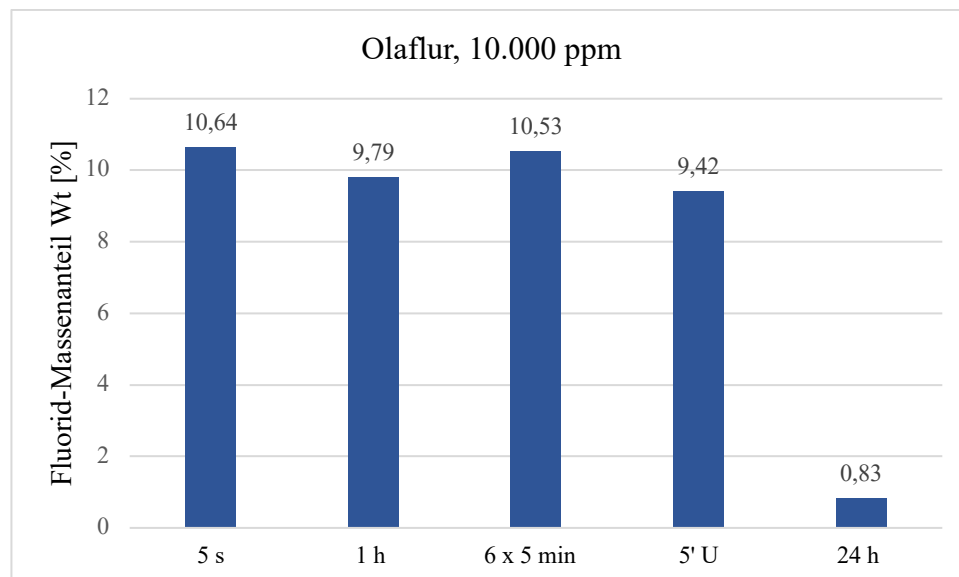


Abb. 16: Ergebnisse der *in-vitro*-Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 min Ultraschallbad, 24 h)

Boviner Zahnschmelz, 5 min inkubiert in 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung (pH 6,3) und anschließender Reinigung 5 min im Ultraschallbad oder 24-stündiger Lagerung in destilliertem Wasser

A) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung

B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente



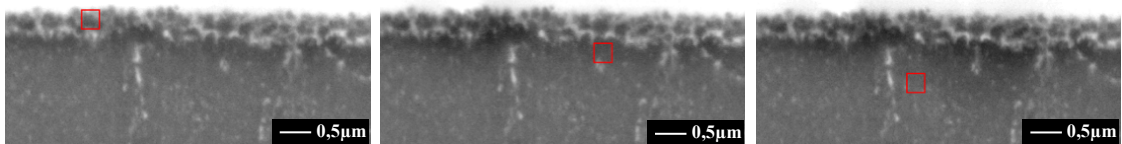
	5 s	1 h	6 x 5 min	5' U	24 h
n	4	4	6	2	2
\bar{X} [%]	10,64	9,79	10,53	9,42	0,83
σ [%]	1,1	3,23	2,64	1,33	0,1

Abb. 17: Darstellung der Mittelwerte der *in-vitro*-Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 s, 1 h, 6 x 5 min, 5'U = 5 min Ultraschallbad, 24 h)

Tabelle mit Anzahl n der untersuchten Prüfkörper, \bar{X} = Fluorid-Massenanteil-Mittelwert in %, Standardabweichung σ in % für die einzelnen Reinigungsprotokolle

Im weiteren Versuchsverlauf wurde ein ausgewählter Prüfkörper, bei dem zuvor im Rahmen der *in-vitro*-Versuche eine homogene Globuli-Fluoriddeckschicht generiert werden konnte, ausgewählt, um eine Blockface-Imaging-Untersuchung durchzuführen. Die Methode des Blockface-Imaging ermöglichte die Betrachtung der Prüfkörper – statt wie bisher von oben – aus der seitlichen Perspektive. So konnten Messungen in unterschiedlichen Tiefen durchgeführt werden, die Aufschluss über die Reichweite der Fluoridierung geben konnten. Die roten Quadrate in den REM-Aufnahmen von Abbildung 18 zeigen den Bereich, in dem die EDS-Analyse stattgefunden hat. Die oberste Schicht zeigt mit 16,29 % einen sehr fluoridreichen Bereich. Die Grenzregion zwischen dieser aufgelagerten Schicht und dem Schmelz zeigt mit 4,66 % einen mit der Tiefe abnehmenden Fluoridgehalt. Bei einer noch tieferliegenden Messung in der Schmelzzone wurde nur noch ein Fluoridgehalt von 0,76 % gemessen.

A



B

Elemente	Massenanteil (%)	Elemente	Massenanteil (%)	Elemente	Massenanteil (%)
C	34,20	C	14,40	C	10,05
O	22,99	O	40,22	O	42,49
F	16,29	F	4,66	F	0,76
Na	0,72	Na	1,06	Na	0,93
P	4,54	P	13,01	P	15,73
Ca	21,00	Ca	26,26	Ca	29,75

Abb. 18: Untersuchung der Eindringtiefe des Fluorids

Boviner Zahnschmelz, 5 min inkubiert in 10.000 ppm-haltiger Orlaflurlösung (pH 6,3) mit anschließender Reinigung für 1 h mit destilliertem Wasser. Die abschließende Aufarbeitung des Prüfkörpers zur Analyse des Querschnittes des Prüfkörpers erfolgte mittels des Blockface-Imaging-Verfahrens.

A) REM-Aufnahme bei 20.000-facher Vergrößerung, rot markierte Rechtecke = Ausschnitt für die EDS-Analyse

B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

4.1.5 *In-vitro*-Fluoridierung von Zahnschmelz mit 10.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung

Die Versuchsreihe aus Abschnitt 4.1.4 wurde mit 10.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung wiederholt. In Abbildung 19 sind REM-Aufnahmen und ihre jeweiligen EDS-Messwerte nach Fluoridierung und den durchgeführten Reinigungsprotokollen (5 s, 5 min Ultraschallbad, 24 h) aufgeführt. Die REM-Aufnahme nach 5-sekündiger Reinigung zeigt zwar eine schemenhafte Auflagerung, jedoch ist der Fluoridmassenanteil mit 3,03 % relativ gering. Nach den intensiveren Reinigungsmethoden (5 min Ultraschallbad bzw. 24 h) reduzierte sich dieser Fluoridmassenanteil, sodass von keiner Persistenz des

Fluorids ausgegangen werden kann. Lediglich Zinn konnte nachgewiesen werden. Hierbei fielen bei der REM-Aufnahme des 24 h-Reinigungsprotokolls kleine helle Partikel auf, welche diffus verteilt waren. Die REM-Aufnahmen der *in-vitro*-Fluoridierung mit Zinnfluorid zeigten alle eine heterogene Verteilung von diesen helleren Konglomeraten sowie stark variierende EDS-Messwerte hinsichtlich des Fluoridgehalts auf (s. Abb. 22). Vor allem nach dem einstündigen 1 h- und dem 6 x 5 min-Reinigungsprotokoll weisen die Standardabweichungen von 5,21 % bzw. 4,26 % darauf hin, dass eine stärkere Streuung der Messwerte um den Mittelwert stattgefunden hat. Die Spannweite ($[R] = x(\max) - x(\min)$) der Fluoridmassenanteile betrug bei der 1 h-Reinigung 14,18 % ($[R] = 15,18 \% - 1,00 \%$) und bei der 6 x 5 min-Reinigung 13,12 % ($[R] = 13,89 \% - 0,77 \%$). Diese Spannweite gibt an, dass ein Fluoridwert unter der Nachweisgrenze lag und gleichzeitig ein anderer eine erfolgreiche Fluoridierung wiedergibt (s. Abb. 20 und 21). Diese Differenzwerte verdeutlichen die Schwierigkeit, eine Fluoridschicht mit der Zinnfluoridlösung zu reproduzieren. Einzig die Zinnwerte lagen konstant nach allen Reinigungsmethoden über der Nachweisgrenze. Bei der Verwendung der Zinnfluoridlösung konnte keine zuverlässige Fluoridschicht reproduziert werden. Auffällig waren die diffus verteilten Konglomerate. Bei der Detail-EDS-Analyse (s. Abb. 20 C) wiesen die hellen Konglomerate im Vergleich zur Übersichtsaufnahme (s. Abb. 20 A) leicht erhöhte Fluoridwerte auf. Allerdings war der Hauptbestandteil dieser hellen Konglomerate mit 53,12 % und 26,05 % eindeutig das Element Zinn (s. Abb. 20 D). Im Verlauf der Durchführung der Experimente fiel auf, dass es bei der 10.000 ppm-haltigen Zinnfluoridlösung zur Ausbildung von Präzipitaten am Boden des Aufbewahrungsgefäßes kam. In Abbildung 23 ist die Analyse des Präzipitates dargestellt. Die REM-Aufnahme verdeutlicht die Kristallstruktur des Präzipitates. Der mittels EDS-Analyse ermittelte prozentuale Massenanteil von 63,01 % des Zinns und von 16,13 % des Fluorids bestätigt, dass das Zinnfluorid nicht in Lösung geblieben ist. Daher konnte die Versuchsreihe mit der Zinnfluoridlösung nicht weiter fortgeführt werden.

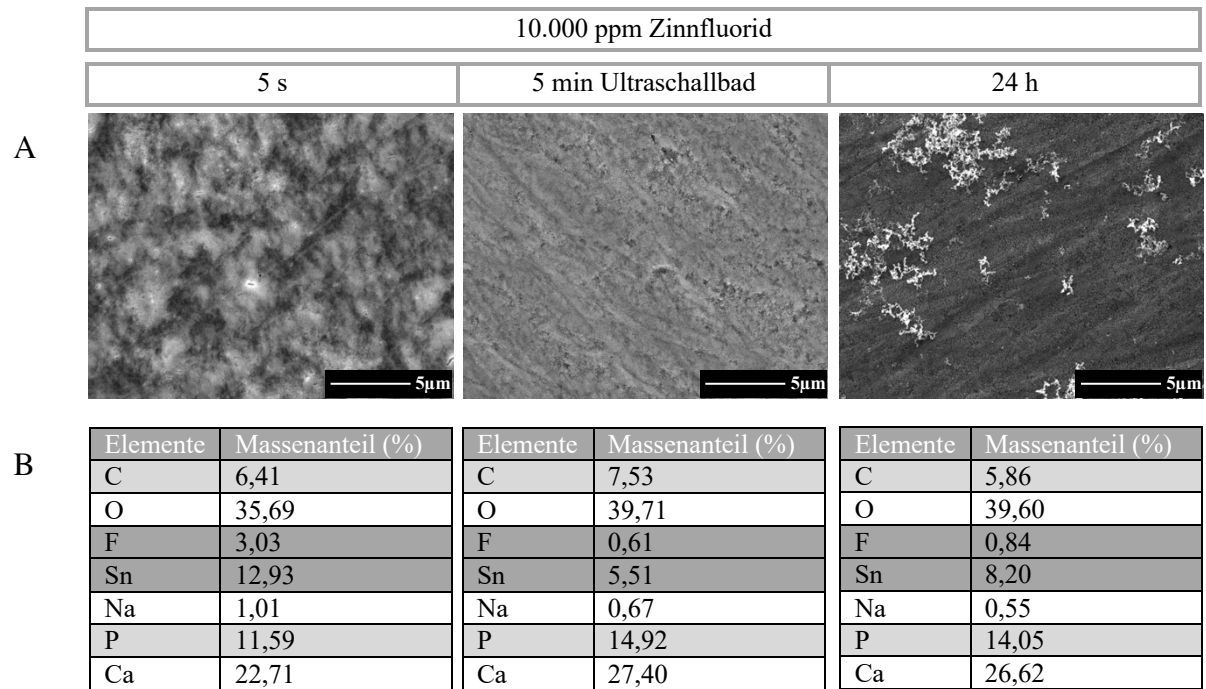


Abb. 19: Ergebnisse der *in-vitro*-Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 s, 5 min Ultraschallbad, 24 h)
 Boviner Zahnschmelz, 5 min inkubiert in 10.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung (pH 2,51) mit anschließender Reinigung für 5 s, 5 min im Ultraschallbad bzw. 24 h mit destilliertem Wasser
 A) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung
 B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

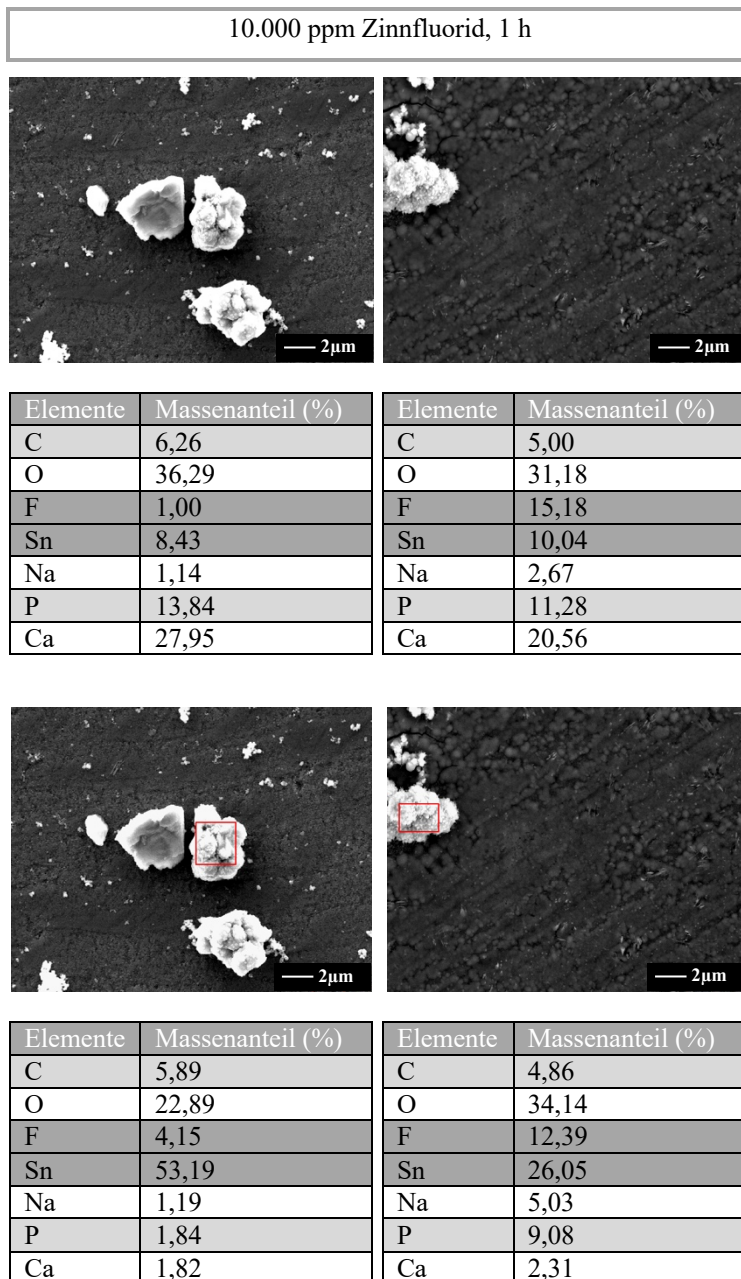


Abb. 20: Gegenüberstellung zweier Prüfkörper nach Fluoridierung durch 10.000 ppm-haltige Zinnfluoridlösung und anschließendem Reinigungsprotokoll (1 h)

Boviner Zahnschmelz, 5 min inkubiert in 10.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung (pH 2,51) mit anschließender Reinigung 1 h in destilliertem Wasser

A) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung

B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

C) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung, rot gekennzeichnete Ausschnitt zeigt den Messbereich der EDS

D) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

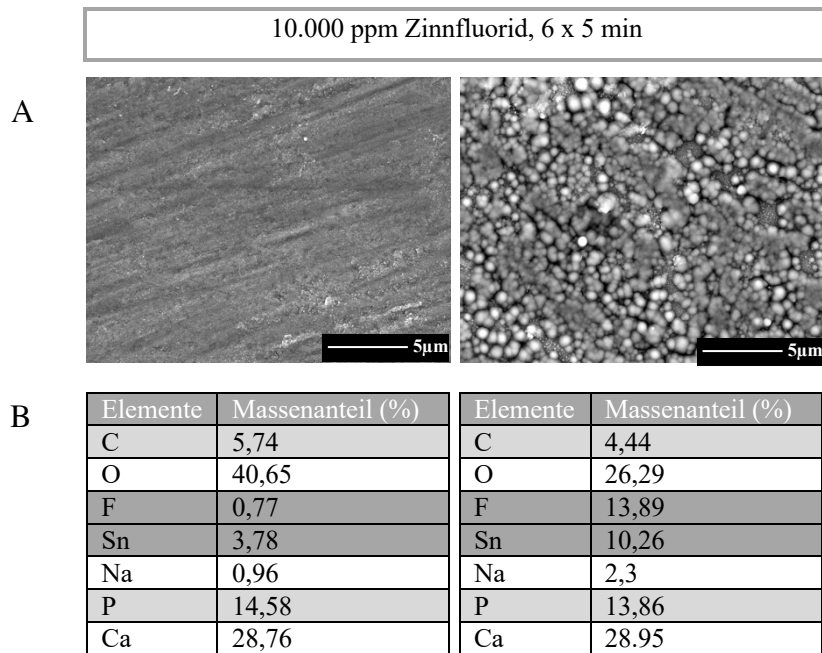


Abb. 21: Gegenüberstellung zweier Prüfkörper nach Fluoridierung durch 10.000 ppm-haltige Zinnfluoridlösung und anschließendem Reinigungsprotokoll (6 x 5 min)

Boviner Zahnschmelz, 5 min inkubiert in 10.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung (pH 2,51) mit anschließender Reinigung 6 x 5 min in destilliertem Wasser

A) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung

B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

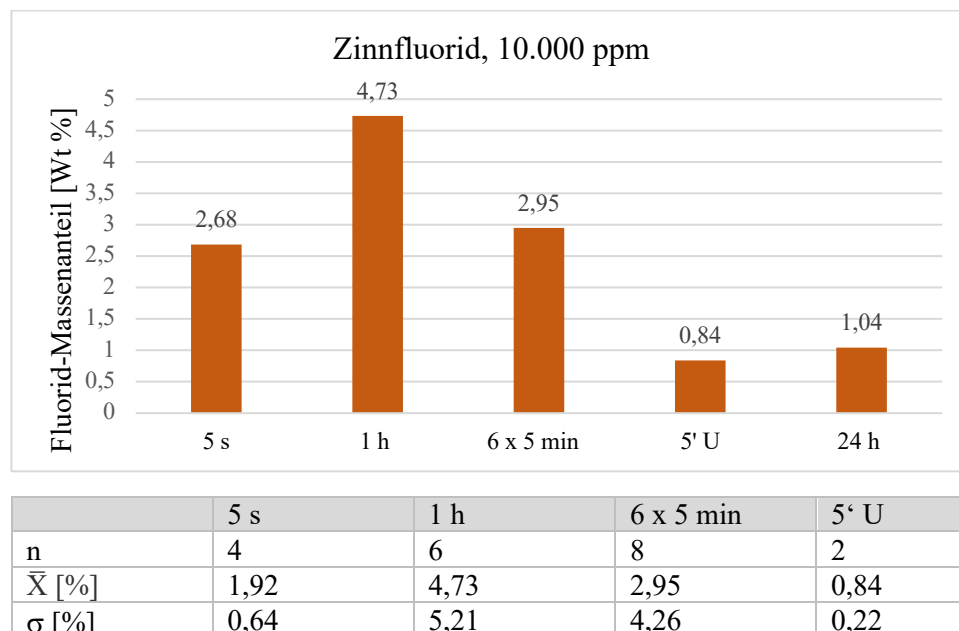


Abb. 22: Darstellung der Mittelwerte der *in-vitro*-Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 s, 1 h, 6 x 5 min, 5'U= 5 min Ultraschallbad, 24 h)

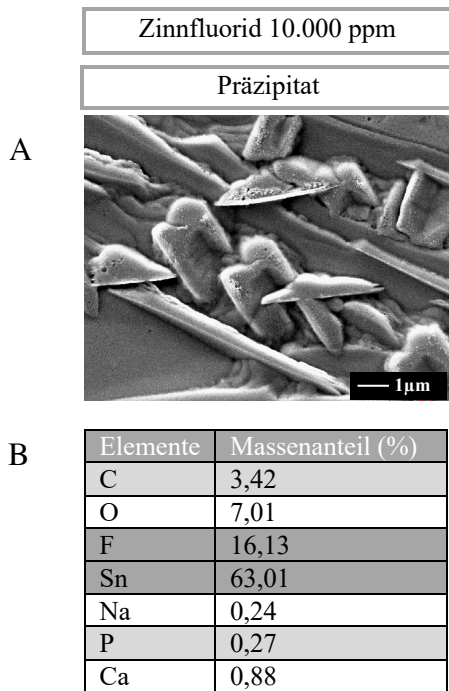


Abb. 23: Analyse des Präzipitates im Aufbewahrungsgefäß der Zinnfluoridlösung

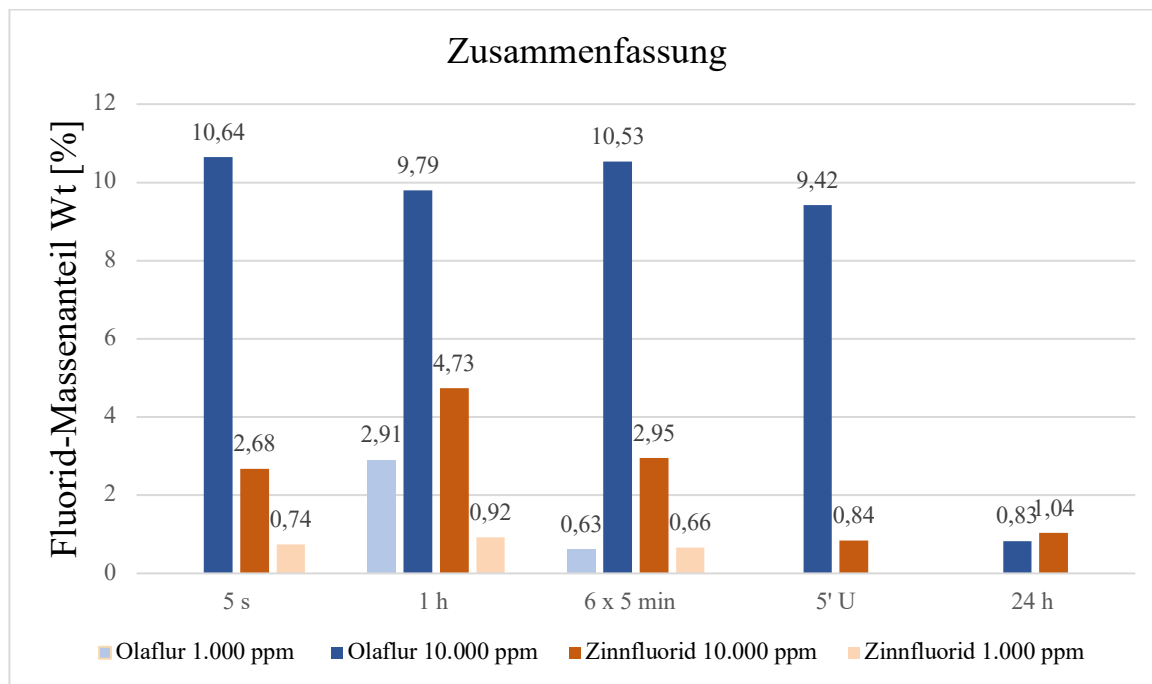
Die Entnahme des Präzipitates erfolgte durch Pipettieren und direkte Applikation auf den REM-Teller. Nach Trocknung über Nacht und Sputtern erfolgte die REM- und die EDS-Messung

A) REM-Aufnahme bei 10.000-facher Vergrößerung

B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

4.1.6 Zusammenfassung der *in-vitro*-Fluoridierungs-Versuchsreihe

In Abbildung 24 sind die Mittelwerte der *in-vitro*-Fluoridierungs-Versuchsreihe aufgeführt. Die Grafik veranschaulicht die Fluoridierungserfolge der jeweiligen Lösungen nach unterschiedlichen Reinigungsmethoden und ermöglicht einen direkten Vergleich. Die Olaflur- und die Zinnfluoridlösung zeigten bei einer Konzentration von 1.000 ppm keine zufriedenstellenden Fluoridwerte, sodass die *in-vitro*-Versuchsreihe mit der 10-fachen Konzentration (10.000 ppm) fortgeführt wurde. Unter Berücksichtigung der relativ hohen Standardabweichungen der 10.000 ppm-haltigen Zinnfluoridlösung im Hinblick auf ihre zugehörigen Mittelwerte kann die Aussage getroffen werden, dass eine reproduzierbare Generierung einer Fluoriddeckschicht mittels Zinnfluorid nicht möglich ist. Hingegen sticht die 10.000 ppm-haltige Olaflurlösung mit ihren Fluoridwerten deutlich heraus. Ihre Calciumfluoriddeckschicht zeigte neben einer homogenen Verteilung eine vielversprechende Persistenz gegenüber den *in-vitro*-Reinigungsprotokollen. Unter Berücksichtigung der Standardabweichungen kann ein reproduzierbarer Fluoridierungserfolg der 10.000 ppm-haltigen Olaflurlösung angenommen werden (s. Abb. 24).



σ [%]	5 s	1 h	6 x 5 min	5' U	24 h
Olafur 1.000 ppm	-	1,46	0,14	-	-
Olafur 10.000 ppm	1,1	3,23	2,64	1,33	0,1
Zinnfluorid 1.000 ppm	0,24	0,37	0,28	-	-
Zinnfluorid 10.000 ppm	0,64	5,21	4,26	0,22	0,2

Abb. 24: Zusammenfassende Darstellung der Mittelwerte und der Standardabweichungen der *in-vitro*-Fluoridierungs-Versuchsreihe von Zahnschmelz mit Olafur und Zinnfluorid (5 s, 1 h, 6 x 5 min, 5'U= 5 min Ultraschallbad, 24 h)

4.2 Einfluss der Pellikel auf die Fluoridierung mit Olafur

Nachdem es im ersten Abschnitt dieser Studie unter *in-vitro*-Bedingungen mit der 10.000 ppm-haltigen Olafurlösung gelang, eine Calciumfluoriddeckschicht mit einer gewissen Persistenz zu generieren, wurde im nächsten Schritt der Einfluss der Pellikel auf die Fluoridierung betrachtet. Untersucht wurde sowohl der Einfluss einer 3 min-Pellikel – welche die intraorale Situation direkt nach dem Zähneputzen simulieren soll – als auch der Einfluss einer 2 h-Pellikel zum Vergleich. Hierbei wurden zum einen die zuvor fluoridierten Schmelzprüfkörper für 3 min bzw. 2 h intraoral exponiert und zum anderen die Schmelzprüfkörper zuerst intraoral exponiert und anschließend fluoridiert.

4.2.1 3 min-Pellikel und 2 h-Pellikel

Zur Kontrolle wurden zunächst Schmelzprüfkörper 3 min bzw. 2 h intraoral exponiert. Hierbei lagen die mittels EDS-Analyse gemessenen Fluoridmassenanteile unter der Nachweisgrenze (s. Abb. 25).

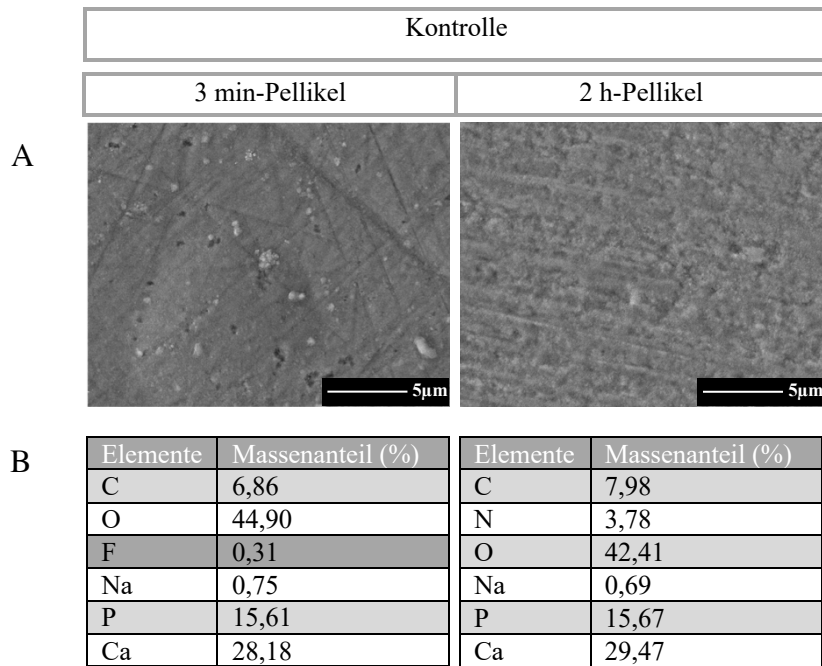


Abb. 25: Kontrolle: 3 min-Pellikel bzw. 2 h-Pellikel

Boviner Zahnschmelz, nach 3-minütiger bzw. 2-stündiger oraler Exposition

A) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung (links REM-Aufnahme der 3 min-Pellikel mit freundlicher Genehmigung von K. Drushinina)

B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

4.2.2 *In-vitro*-Fluoridierung von Zahnschmelz mit 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung und anschließender intraoraler Exposition

Die Prüfkörper wurden zunächst wie in der *in-vitro*-Experimentreihe 5 min in 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung inkubiert, um eine Fluoriddeckschicht zu generieren. Diese vorbehandelten Prüfkörper wurden anschließend für 3 min bzw. 2 h von den Probanden intraoral exponiert. Die repräsentative REM-Aufnahme in Abbildung 26 zeigt nach 3-minütiger Exposition eine ähnliche Konfiguration der Calciumfluoriddeckschicht wie bei der reinen *in-vitro*-Versuchsreihe (s. Abb. 7, 9, 14 und 15), welche sich durch viele homogen verteilte Kügelchen kennzeichnet. Die Prüfkörper, die nach der Fluoridierung einer 2-stündigen intraoralen Exposition unterlagen, zeigten in den REM-Aufnahmen noch schemenhaft die kugelförmige Struktur der Calciumfluoridglobuli, da sich die Pellikel auf die Fluoriddeckschicht aufgelagert hat. Sowohl nach der 3 min- als auch nach der 2 h-Exposition sind die aufgeführten

Fluoridwerte von 8,35 % bzw. von 9,05 % mit den bisher *in-vitro* generierten Calciumfluoriddeckschichten ohne anschließende intraorale Exposition vergleichbar (s. Abb. 26 und Abb. 31). In Abbildung 28 sind zur besseren Darstellung der einzelnen Globuli die REM-Aufnahmen aus Abbildung 27 nochmals mit 20.000-facher Vergrößerung aufgeführt.

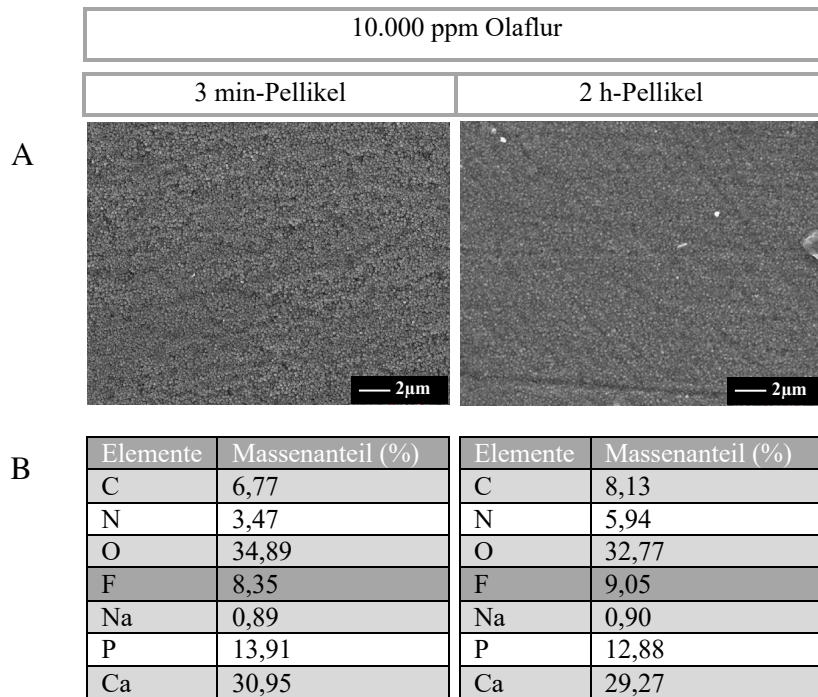


Abb. 26: Ergebnisse der *in-vitro*-Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung nach intraoraler Exposition
 Boviner Zahnschmelz, 5 min inkubiert in 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung (pH 6,3), 5-sekündige Lagerung in destilliertem Wasser (Zwischenspülung) und anschließende intraorale Exposition für 3 min oder 2 h
 A) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung
 B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

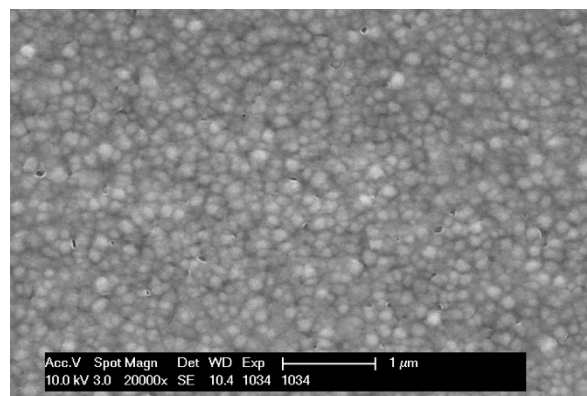
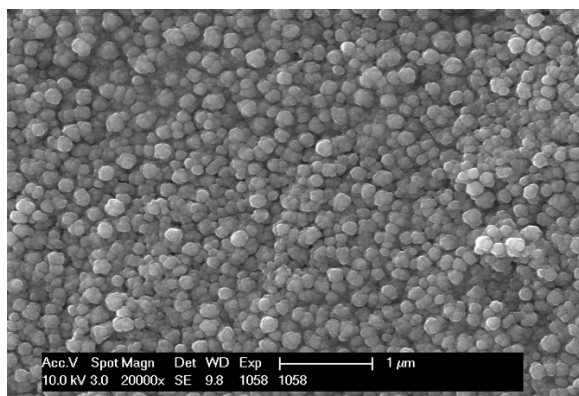


Abb. 27: REM-Aufnahmen bei 20.000-facher Vergrößerung von Schmelzprüfkörpern nach *in-vitro*-Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung und anschließender intraoraler Exposition (links 3 min, rechts 2 h)

4.2.3 *In-vitro*-Fluoridierung von pellicelbedecktem Zahnschmelz mit 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung

Im Gegensatz zur vorherigen Versuchsreihe (s. Abschnitt 4.2.2) wurden nun die Prüfkörper zuerst 3 min bzw. 2 h intraoral exponiert und dann *in-vitro* in 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung 5 min inkubiert. Auf der 3 min-Pellicel ließ sich ebenfalls eine homogene Calciumfluoriddeckschicht generieren (s. Abb. 28 und Abb. 29). Mit einem mittleren Fluoridwert von 7,58 % lagen keine erheblichen Abweichungen zu den Werten der *in-vitro*-Fluoridierung von nicht oral-exponiertem Zahnschmelz vor (s. Abb. 31). Auf den Prüfkörpern, welche vor Behandlung mit der Olaflurlösung 2 h intraoral exponiert wurden, ließ sich hingegen keine Fluoriddeckschicht generieren. Alle Fluoridwerte lagen hier unter der Nachweisgrenze. In Abbildung 30 sind zur Übersicht die Mittelwerte und die jeweiligen Standardabweichungen der einzelnen Versuche aufgeführt.

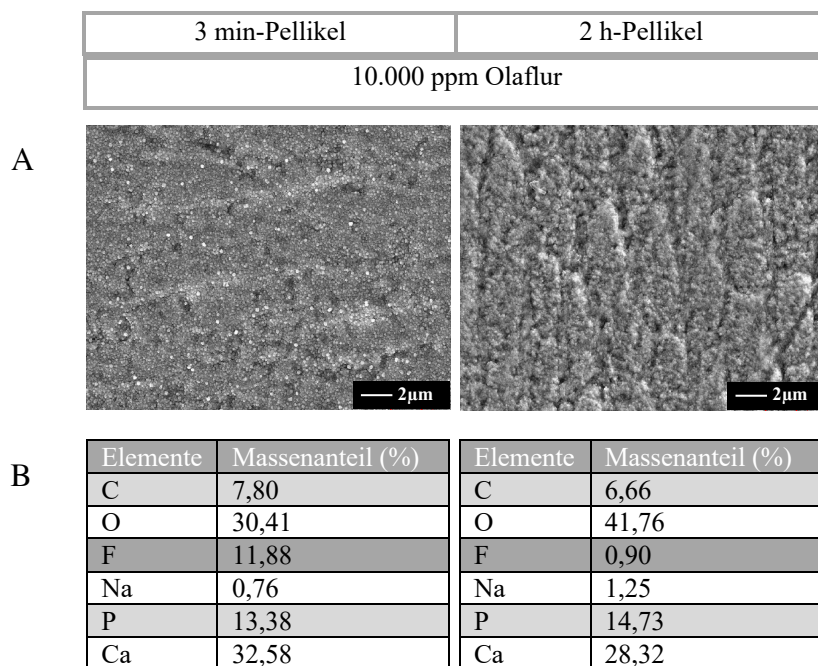


Abb. 28: Ergebnisse der *in-vitro*-Fluoridierung von pellicelbedecktem Zahnschmelz
 Boviner Zahnschmelz, 3 min bzw. 2 h intraoral exponiert und anschließend 5 min in 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung (pH 6,3) inkubiert, mit nachfolgender Reinigung für 5 s mit destilliertem Wasser
 A) REM-Aufnahme bei 5.000-facher Vergrößerung
 B) Tabelle der EDS-ermittelten prozentualen Massenanteile der aufgeführten Elemente

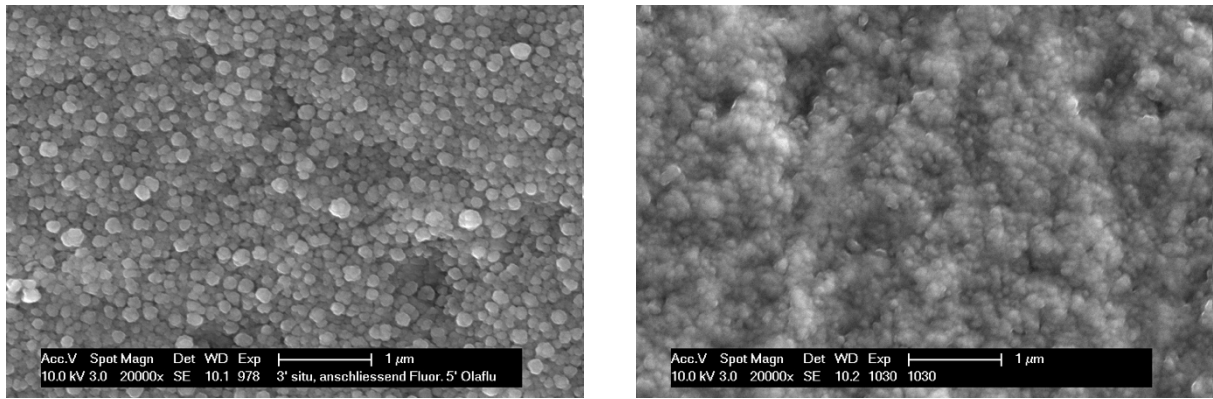
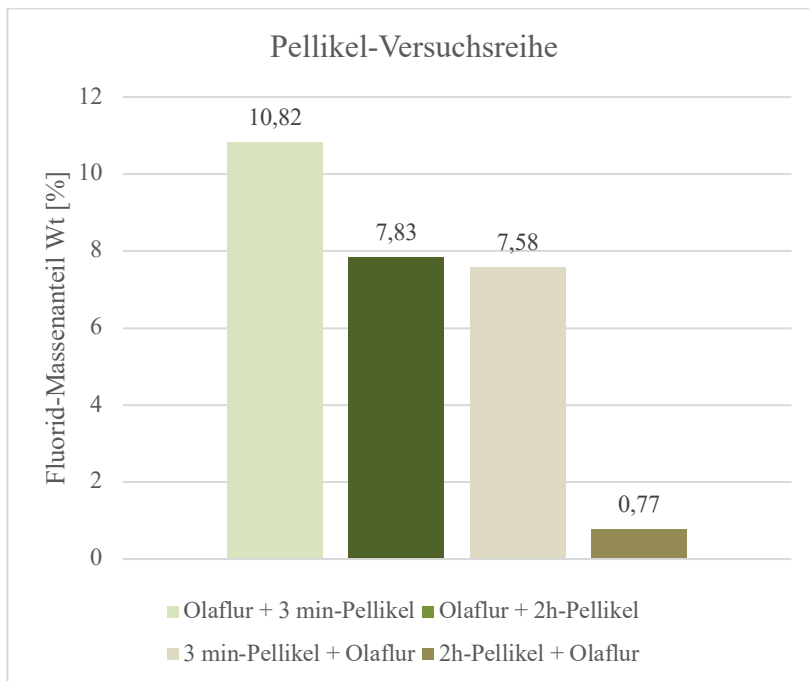


Abb. 29: REM-Aufnahme bei 20.000-facher Vergrößerung von oral exponierten Schmelzprüfkörpern (links 3 min, rechts 2 h) und anschließender *in-vitro*-Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung



	Olafur + 3 min	Olafur + 2 h	3 min + Olafur	2 h + Olafur
n	8	8	10	9
\bar{X} [%]	10,82	7,83	7,58	0,77
σ [%]	1,98	2,76	3,37	0,22

Abb. 30: Mittelwerte der *in-vitro*-Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung: Einfluss der 3 min-Pellikel bzw. der 2 h-Pellikel

n: Anzahl der untersuchten Prüfkörper, \bar{X} = Fluorid-Massenanteil-Mittelwert, σ : Standardabweichung

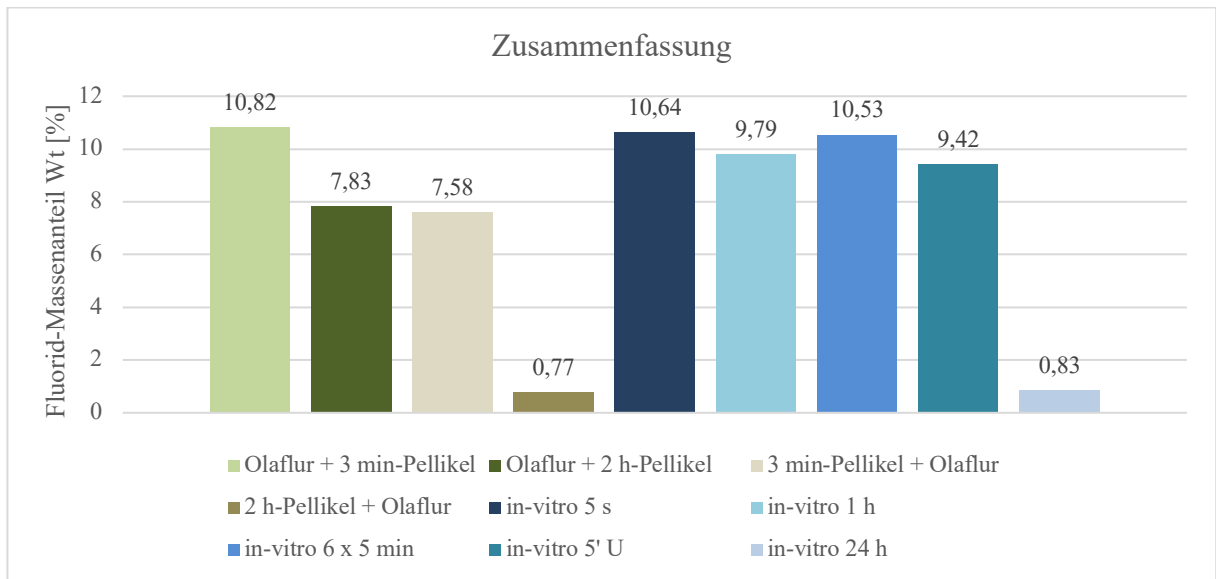


Abb. 31: Zusammenfassung der Versuchsreihe mit 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung

5 Diskussion

5.1 Zielsetzung

Die Zielsetzung dieser Arbeit lag in der Generierung einer homogen verteilten Fluoriddeckschicht unter verschiedenen Bedingungen. Es existieren zahlreiche Studien, welche Zahnpasten oder Spüllösungen mit Fluoridzusatz untersucht haben und deren kariesinhibierende Wirkung bestätigen [4, 13, 30, 65, 72, 124, 129]. Hingegen finden sich kaum Studien, wie die von Petzold et al. oder Scholz et al., die sich mit der Ausbildung von Calciumfluoriddeckschichten durch Fluoridlösungen aus Reinstoffen beschäftigt und deren Persistenz in der Mundhöhle untersucht haben [104, 113]. Bei den Prüfprodukten Olaflur und Zinnfluorid handelte es sich jeweils um solche Reinstoffe. Dies ermöglichte nicht nur einen direkten Vergleich zwischen den beiden Fluoridlösungen – Olaflur und Zinnfluorid –, sondern auch die Evaluierung der generierten Calciumfluoriddeckschichten unter Einbeziehung der Konzentration, der Persistenz, der Stabilität und des pH-Wertes. Da es sich bei der vorliegenden Arbeit um keine reine *in-vitro*-Studie handelt und ebenfalls der Einfluss der 3 min-Pellikel bzw. der 2 h-Pellikel mit untersucht wurden, verfolgt diese Arbeit einen präventiven Ansatz für eine gezielte chemische Modifikation der Pellikel.

5.2 Diskussion der Methoden

5.2.1 Herstellung und Bearbeitung der Prüfkörper

Die Nutzung von bovinen Schmelzprüfkörpern ist seit vielen Jahren in der zahnmedizinischen Forschung etabliert und hat sich hervorragend als Ersatzmaterial für humane Zähne bewährt [47, 101]. Die Größe der bovinen Frontzähne ermöglichte eine einfachere Herstellung einheitlicher standardisierter Prüfkörper mit den Dimensionen 4-5 mm x 4-5 mm. Da Rinderzähne den humanen Zähnen strukturell sehr ähneln [19, 28]., wurden bovine Schmelzproben als Prüfkörper verwendet. Im Gegensatz zu humanen Zähnen, deren Extraktionsnotwendigkeit häufig mit Karies korreliert, haben die bovinen Zähne den großen Vorteil, dass sie durch die Nutzviehhaltung in größeren Mengen ohne kariöse Läsionen verfügbar sind [90]. Außerdem weisen die Proben durch die einheitliche Ernährung und das ähnliche Schlachtungsalter nur geringe interindividuelle Unterschiede auf. In der Mikrostruktur und ihrer chemischen Zusammensetzung gibt es keine maßgeblichen Unterschiede zu humanem Zahnschmelz. Auch bezüglich der Anfälligkeit für Demineralisationen lagen nur geringfügige Abweichungen vor [19, 28, 53, 78, 79]. Daher lassen sich die Ergebnisse der vorliegenden Studie sehr gut auf humane Zähne übertragen. Um vergleichbare Voraussetzungen zu schaffen und eine verlässliche Auswertung zu gewährleisten, wurden alle Oberflächenunebenheiten der Prüfkörper beseitigt, indem

diese mit Nassschleifpapieren bis zu einer Korngröße von 2500 Grit poliert wurden. Die glatte und homogene Oberfläche gewährleistet somit reproduzierbare und gleichartige Bedingungen für die Pellikelbildung. Rasterelektronmikroskopische Untersuchungen belegen, dass die initiale Biofilmbildung auf der Schmelzoberfläche zuerst an Oberflächenunebenheiten [88, 107] wie z. B. Rissen, Fissuren oder im Approximalraum stattfindet. Durch erschwerte Zugänglichkeit sind Bakterien an diesen Stellen vor Scherkräften geschützt. Im Vergleich zur klinischen Situation weist die polierte Oberfläche geringere Retentionseigenschaften auf, als dies in Rissen, Fissuren, Approximalräumen oder auch an freiliegenden Wurzeloberflächen der Fall ist [88, 107].

5.2.2 Probandenselektion

An dieser experimentellen Studie nahmen insgesamt vier Probanden teil. Es wurden spezielle und allgemeine Anamnesen erhoben, um systemische Erkrankungen, welche möglicherweise die Pellikelbildung beeinflussen könnten, auszuschließen. Es ist bekannt, dass bestimmte Erkrankungen, Medikamente oder Bestrahlungen im Kopf-Hals-Bereich einen verminderten Speichelfluss sowie eine veränderte Speichelzusammensetzung – und somit eine veränderte Pellikelzusammensetzung – bedingen [6, 74].

Um möglichst vergleichbare Voraussetzungen zu gewährleisten, wurden Probanden mit einem kariesinaktiven Gebiss sowie mit unauffälligen Schleimhautbefunden ausgewählt. Während der Versuchsdauer waren Nahrungszehr und Trinken untersagt. Bei allen Probanden handelte es sich um Nichtraucher. Dies diente zur Reduzierung exogener Einflüsse [62, 131]. Bei der Auswahl der Probanden wurde nicht zwischen den Geschlechtern unterschieden. Daher ist das weibliche Geschlecht mit drei von vier Probanden überrepräsentiert. Zudem muss das junge Alter aller Probanden (21 bis 29 Jahre) mit einbezogen werden. Eine junge Patientengruppe bietet den Vorteil, dass sie anamnestisch die Kriterien dieser Studie häufig erfüllen. Allerdings wurden keine Probanden verschiedener Altersklassen betrachtet, weshalb diese Studie eher eine repräsentative Stichprobe für eine jüngere Altersgruppe darstellt. Die Ergebnisse wurden weder geschlechts- noch altersspezifisch aufgeführt und untersucht. Dies gilt es bei der Betrachtung der Ergebnisse zu berücksichtigen. Da bei allen Probanden einheitliche Ergebnisse geliefert wurden, wurde auf eine Erhöhung der Probandenanzahl verzichtet. Jedoch würde eine höhere Probandenzahl eine verlässlichere Aussagekraft liefern und interindividuelle Unterschiede berücksichtigen.

5.2.3 Pellikelgewinnung

Die Pellikelgewinnung kann sowohl *in-vitro* als auch *in-situ* erfolgen. Die *in-vitro* Generierung einer Pellikel hat den Vorteil, dass sie gut zu reproduzieren ist und somit die Generierung in größeren Mengen sehr einfach erfolgen kann. Neben der Zeitersparnis können unter *in-vitro*-Bedingungen auch Substanzen bedenkenlos untersucht werden, die unter Verdacht stehen, kritisch auf den menschlichen Organismus zu wirken. Da es jedoch Ziel dieser Arbeit war, die Gegebenheiten in der Mundhöhle möglichst realitätsnah zu untersuchen und es sich bei Olaflur in den verwendeten Dosen um keine giftige Substanz handelt, erfolgte die Biofilmgewinnung *in-situ*. Für jeden Probanden wurden individuelle Trageschienen hergestellt, auf denen die Prüfkörper fixiert wurden. Die Trageschienen bedeckten nicht den Gaumen, um eine Beeinflussung der palatinalen Speicheldrüsen auszuschließen. Allerdings bedeckten die Schienen die Sulci gingivales im Bereich des Eckzahnes bis zum 2. Molaren, um die notwendige Fläche zur Fixierung der Prüfkörper zu bieten. Dies mag die Sekretion der Sulkusflüssigkeit, welche an der Pellikelbildung beteiligt ist, beeinflusst haben [49]. Trotzdem ist diese Art der Biofilmgewinnung eine anerkannte Möglichkeit der intraoralen Biofilmbildung und bietet somit eine sehr gute Darstellung der klinischen Situation in der Mundhöhle [105].

5.2.4 Methodik der Analyse

Nach Behandlung mit der jeweiligen Fluoridlösung wird für eine aussagekräftige Untersuchung des Fluoridierungseffektes auf der Schmelzoberfläche sowohl eine qualitative als auch eine quantitative Mess- und Analysemethode benötigt. In der vorliegenden Studie wurden alle Prüfkörperoberflächen mittels REM untersucht und repräsentative Ausschnitte digitalfotografisch festgehalten. Diese REM-Aufnahmen wurden als qualitative Analysemethode herangezogen und dienten zur Darstellung der Morphologie der Schmelzoberfläche bzw. der generierten Fluoriddeckschicht. Da allerdings die Rasterelektronenmikroskopie weder Informationen über die qualitative noch über die quantitative Elementarzusammensetzung liefert, kann sie nicht als alleinige Methode genutzt werden [50]. Zur Detektion vorhandener Elemente und deren quantitativer Zusammensetzung wurde deshalb die EDS herangezogen. Die EDS ermöglichte durch Detail- oder Punktmessungen eine genaue Identifikation vorhandener Elemente. Die REM-Aufnahmen der Oberflächen ließen bereits vermuten, dass sich auf der Schmelzoberfläche eine Schicht aufgelagert hatte. Daher wurde zusätzlich im Rahmen des Blockface-Imaging die Betrachtung des Prüfkörpers aus seitlicher Perspektive ergänzt. So konnte ausgeschlossen werden, dass bei den bisherigen Messungen, bei welchen der Messstrahl eine gewisse Tiefe erreichte – und ggf. die darunterliegende Schmelzschicht mitmaß – die Elementarzusammensetzung der Globuli verfälscht wurde. Nachteil der EDS-Methodik war, dass stets nur Ausschnitte betrachtet und analysiert wurden. Bei den in dieser Studie verwendeten Prüfkörpern

handelte es sich um plane Schmelzproben, bei denen auf den REM-Aufnahmen gut ersichtlich war, ob eine homogene Fluoridierung stattgefunden hat oder nicht. Da jedoch in der Mundhöhle Unebenheiten vorliegen, wäre es für zukünftige Studien interessant zu untersuchen, wie sich die Verteilung der Fluoriddeckschicht bei Unebenheiten verhält [115]. Hinzu kommt, dass die Generierung der Fluoriddeckschichten ausschließlich *in-vitro* erfolgte. Dies war erforderlich, um zunächst zu betrachten, ob und in welcher Form sich Fluoriddeckschichten generieren lassen. Bei der *in-vitro*-Versuchsdurchführung wurde durch Reinigungsprotokolle versucht, die klinische Situation nachzuahmen. Allerdings entsprechen diese nicht vollständig der Realität. Deshalb wäre es in einem weiteren Schritt sinnvoll, einen *in-situ*-Versuchsaufbau zu ergänzen.

5.3 Diskussion der Ergebnisse

5.3.1 Kontrollgruppe

Bei der Untersuchung der unbehandelten Schmelzprüfkörper wurde ein mittlerer Fluoridmassenanteil von 0,57 % gemessen (s. Abschnitt 4.1.1). Die niedrigen Werte sind auf die systemische Aufnahme von Fluoridspuren aus dem Trinkwasser und der Nahrung der Rinder zu Lebzeiten zurückzuführen. Hierdurch reicherte sich das Fluorid in ihren Zähnen an [59].

5.3.2 Variation der Konzentration

Experten empfehlen Kindern bereits ab dem Durchbruch des ersten Zahnes sich zweimal täglich entweder mit einer erbsengroßen Menge 500 ppm-fluoridhaltiger oder mit einer reiskorngroßen Menge 1.000 ppm-fluoridhaltiger Zahnpasta die Zähne zu putzen. Ab dem 6. Lebensjahr wird mit dem Durchbruch des ersten bleibenden Molaren die tägliche Anwendung von Zahnpasten mit einem Mindestfluoridanteil von 1.000 ppm bis 1.500 ppm empfohlen [25]. Hochkonzentrierte Fluoridpräparate wie *elmex® fluid* (10.000 ppm, Inhaltsstoffe: Olaflur, Dectaflur) oder *elmex® gelée* (12.500 ppm, Inhaltsstoffe: Olaflur, Dectaflur, Natriumfluorid) dienen der zusätzlichen Intensivfluoridierung. Das *elmex® gelée* soll nach Herstellerangaben ein Mal pro Woche vom Patienten selbst angewendet werden, wohingegen das *elmex® fluid* zweimal jährlich durch den Zahnarzt appliziert werden sollte [35, 36, 114]. In der vorliegenden Studie wurden die jeweiligen Fluoridlösungen in 1.000 ppm- und 10.000 ppm-haltiger Konzentration hergestellt. So konnte eine geringere Konzentration von 1.000 ppm, die bei der alltäglichen Anwendung herkömmlicher Zahnpasten

verwendet wird, mit dem 10.000 ppm-haltigen, hochkonzentrierten Intensivfluoridierungspräparat verglichen werden.

Bei Anwendung der Zinnfluoridlösung konnte keine zuverlässige Fluoriddeckschicht reproduziert werden (vgl. Abschnitt 4.1.5). Die beschriebenen diffus verteilten Konglomerate deuten an, dass sich das Zinnfluorid nicht homogen lösen konnte. Außerdem gestaltete sich die Lagerung der Zinnfluoridlösung besonders schwierig, da es bereits nach wenigen Tagen zur Ausbildung von Präzipitaten am Boden des Aufbewahrungsgefäßes kam. Diese Beobachtung bestätigt die von Imfeld et al. ebenfalls beschriebene Schwierigkeit der Zinnstabilisierung und kann eine Erklärung für die schlechte und inhomogene Fluoridierung durch reines Zinnfluorid in der vorliegenden Studie sein [63, 64]. Dies war der Grund, warum an dieser Stelle die Versuchsreihe mit dem Zinnfluorid nicht weiter fortgeführt wurde.

5.3.3 Olaflur und Zinnfluorid

Die vorliegenden Untersuchungen ergaben, dass sich bereits unter *in-vitro*-Bedingungen mit 1.000 ppm-haltiger Olaflur- bzw. Zinnfluoridlösung keine persistente Fluoriddeckschicht mit hohem Fluoridmassenanteil generieren ließ. Durch Erhöhen der Konzentration auf 10.000 ppm gelang es lediglich mit der Olaflurlösung, eine persistente und homogene Fluoriddeckschicht *in-vitro* zu etablieren. Die *in-vitro* generierte Fluoriddeckschicht war auch nach intraoralen Exposition für 3 min bzw. 2 h noch nachweisbar. Erfolgte erst die Pellikelbildung auf den Schmelzproben (3 min bzw. 2 h), konnte auf dem 3 min-pellikelbedeckten Zahnschmelz ebenfalls eine Fluoriddeckschicht generiert werden, wohingegen auf dem 2 h-pellikelbedeckten Zahnschmelz sich die Fluoridwerte unter der Nachweisgrenze befanden. Es liegen mehrere Studien vor, die belegen, dass durch die Anwendung von Aminfluoriden eine vergleichsweise höhere Fluoridanreicherung in der oberen Schmelzschicht erzielt wurde als durch anorganische Fluoridverbindungen wie z. B. Zinnfluorid [12, 69, 93]. In der Studie von Holler et al. aus dem Jahr 2002 wurden verschiedene Fluoridlösungen untersucht – darunter auch eine Olaflurlösung mit einem pH-Wert von 4,65. Dabei wurde die Eindringtiefe der Fluoridierung im Schmelz bzw. im Dentin untersucht. Die Applikationszeiten mit der jeweiligen Fluoridlösung betragen entweder 5 min oder 24 h. Die Studie zeigte, dass der Fluoridgehalt in der obersten Schmelzschicht am höchsten war und in der Tiefe immer weiter abnahm. Der Fluoridgehalt nahm bei längerer Applikationszeit zu. Außerdem erwiesen sich die Aminfluoride – darunter das Olaflur – gegenüber dem Natriumfluorid im Hinblick auf die Fluoridakkumulation im Zahnschmelz und im Dentin als etwas wirkungsvoller [61]. Generell liegen sehr wenige Studien vor, die einen direkten Vergleich zwischen Zinnfluorid und Olaflur erlauben. Bereits in der Studie von Kirkegaard et al. aus dem Jahr 1977 wurden mit Zinnfluorid im Vergleich zum Aminfluorid geringere Fluoridwerte erzielt [69]. In der vorliegenden Studie war die Generierung einer homogenen Fluoriddeckschicht mit der reinen Zinnfluoridlösung

aufgrund von Präzipitationen fehlgeschlagen. Es gibt Hersteller, die damit werben, dass Zinn-Ionen in Kombination mit Aminfluoriden stabilisiert werden und so neben der Fluoridwirkung auch die zusätzlich anti-erosive Wirkung der Zinn-Ionen zum Tragen kommt [95]. In einer aktuellen Studie, welche Ende 2019 veröffentlicht wurde, schlussfolgerten Johannsen et al., dass Zinnfluorid-stabilisierte Zahnpasta die Zahnstein- und Zahnbelagbildung verringert und sich somit positiv auf Gingivitis und Foetor ex ore auswirke [65].

5.3.4 Vergleich differenter Reinigungsprotokolle

In dieser Studie wurde zunächst durch *in-vitro*-Reinigungsprotokolle untersucht, wie persistent die generierten Calciumfluoriddeckschichten sind. Die Intensität der Reinigungsprotokolle wurde von der 5-sekündigen über die einstündige bis hin zur 24-stündigen Lagerung in destilliertem Wasser gesteigert. Außerdem wurden Waschvorgänge wie die 5-minütige Lagerung im Ultraschallbad und das 6-malige Erneuern des Wassers alle 5 Minuten im Lagerungsbehältnis ergänzt. Unter *in-vitro*-Bedingungen zeigte die mit 1.000 ppm-haltiger Olaflurlösung generierte Calciumfluoriddeckschicht auf pellicelfreiem Zahnschmelz eine mangelnde Persistenz gegenüber den verschiedenen Waschvorgängen (5 s, 1 h, 6 x 5 min, 5 min Ultraschallbad). Daher wurde im weiteren Verlauf die 1.000 ppm-haltige Olaflurlösung verworfen und die Konzentration auf 10.000 ppm erhöht. Die gleiche Versuchsreihe mit 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung lieferte im Hinblick auf den Fluoridgehalt und die Persistenz sehr vielversprechende Ergebnisse. Die generierte Calciumfluoriddeckschicht konnte den genannten verschieden intensiven Waschvorgängen mit destilliertem Wasser standhalten. Lediglich nach der ergänzenden 24-stündigen Lagerung in destilliertem Wasser lag der Fluoridgehalt im Zahnschmelz unter der Nachweisgrenze.

Diese *in-vitro*-Reinigungsprotokolle dienen zur Simulation der Spülvorgänge in der Mundhöhle. Die Ergebnisse dieser *in-vitro*-Waschvorgänge waren Indizien für die Persistenz der generierten Fluoriddeckschicht in der Mundhöhle sowie die Generierung einer Fluoriddeckschicht auf pellicelbedecktem Zahnschmelz.

5.3.5 Assimilation an klinische Verhältnisse mit Olaflur (10.000 ppm)

Um sich der klinischen Situation weiter zu nähern, wurden Proben mit generierten Calciumfluoriddeckschichten für 3 min bzw. 2 h intraoral exponiert. Das Ergebnis dieses Versuches war, dass die Calciumfluoriddeckschicht den *in-situ*-Verhältnissen in der Mundhöhle standhalten konnte. Da sich allerdings bereits nach wenigen Sekunden eine Pellicel auf der Zahnoberfläche bildet

[49], wurde ein weiterer Versuch durchgeführt, bei dem zunächst die Proben intraoral für 3 min bzw. für 2 h exponiert und erst anschließend fluoridiert wurden. Dies kommt der alltäglichen klinischen Situation sehr nahe. Wenn davon ausgegangen wird, dass die 3 min-Pellikel die klinischen Verhältnisse nach dem Zähneputzen bzw. nach einer professionellen Zahnreinigung darstellt, ist die Applikation von Fluoridpräparaten nach Durchführung dieser Mundhygienemaßnahmen durchaus sinnvoll – insbesondere unter Berücksichtigung des Ergebnisses, dass die Fluoridierung auf der 2 h-Pellikel fehlgeschlagen ist. Über den Einfluss der Pellikel auf die Fluoridierung wurden bislang nur wenige Untersuchungen veröffentlicht. Die Studie von Scholz et al. aus dem Jahr 2019 zeigt geringfügige Tendenzen niedrigerer Fluoridwerte bei vorhandener Pellikel im Vergleich zu der Gruppe ohne Pellikel. Ein ausschlaggebender Parameter für die Fluoridierung war hier allerdings der pH-Wert. Das jeweilige fluoridhaltige Gel mit einem pH-Wert von 4,75 zeigte bei der EDS-Analyse deutlich höhere Fluoridwerte als die Vergleichsgruppe mit einem pH-Wert von 7,0 [113].

Die Studie von Hellwig et al. aus dem Jahr 2010 belegt, dass unter *in-vitro*-Bedingungen die Generierung einer Calciumfluoriddeckschicht durch ein Gemisch aus einem Aminfluorid-Gel in 12.500 ppm-haltiger Konzentration und menschlichem Speichel möglich ist. Bei Hellwig et al. wurden die 5 min-inkubierten Proben entweder 1 h, 24 h, 2 Tage oder 5 Tage in einem Speichel-Wasser-Gemisch gelagert. Die durch das Aminfluorid gebildete Calciumfluoriddeckschicht erwies sich als etwas resistenter als die durch das Natriumfluorid gebildete Schicht. Allerdings war auch beim Aminfluorid nach 5 Tagen kaum noch Calciumfluorid nachweisbar. Mit dieser Studie kamen Hellwig et al. zu dem Schluss, dass die Applikation hochkonzentrierter Fluoridpräparate in regelmäßigen Zeitabständen erfolgen muss, um eine Wiederherstellung der Calciumfluoriddeckschicht zu gewährleisten [58]. Da es sich um ein Fluorid-Speichel-Gemisch handelte, bestand keine Barriere in Form einer Pellikel oder eines Biofilms, welche zunächst durchdrungen werden musste. Die vorliegende Studie hatte jedoch das Ziel, sich der klinischen Situation im Mund weiter anzunähern. Es wurden neben den statischen *in-vitro*-Reinigungsprotokollen auch kinetische Reinigungsprotokolle ergänzt, welche unterschiedliche Intensitäten aufwiesen und eine Annäherung an die Spülvorgänge in der Mundhöhle darstellen sollten. Nachdem die generierten Calciumfluoriddeckschichten eine gewisse Persistenz darlegten, wurde die Versuchsreihe optimiert, indem die Biofilmgewinnung – statt *in-vitro* durch Speichelzugabe wie bei Hellwig et al. – *in-situ* durchgeführt wurde. Die Inkubation mit der Fluoridlösung fand allerdings ausschließlich *in-vitro* statt. Eine lückenlos *in-situ* durchgeführte Studie wäre an dieser Stelle für zukünftige Arbeiten zu empfehlen, um das Zusammenspiel des Biofilms und die Generierung von Fluoriddeckschichten auf dem Zahnschmelz umfassender zu untersuchen.

5.3.6 Vergleich 3 min-Pellikel und 2 h-Pellikel

Der nicht zu erwartende Befund, dass die Fluoridierung auf dem Zahnschmelz, welcher von einer 2 h-Pellikel bedeckt war, nicht gelang, lässt sich wahrscheinlich durch die protektiven Eigenschaften der Pellikel begründen. Die Pellikel fungiert als natürliche Diffusionsbarriere für erosive Noxen [2, 45, 48, 49, 51, 76, 131]. Im Rahmen des Pellikelwachstums verfügt die Pellikel nach 2 h über eine höhere Schichtdicke als nach 3 min [33, 44, 49]. Mit zunehmender Schichtdicke liegt dementsprechend auch eine größere Barriere vor, die es zu überwinden gilt. Unter Berücksichtigung dieses Befundes scheint in der Modulation des pH-Wertes ein vielversprechender Ansatz zu liegen, um die 2 h-Pellikel zu durchdringen und eine Calciumfluoriddeckschicht zu etablieren.

5.3.7 Evaluierung des Einflusses des pH-Wertes

Neben der Fluoridkonzentration, der Anwendungshäufigkeit und der Einwirkdauer bestimmt insbesondere der pH-Wert die Wirkung der Fluoride. In der Literatur wird beschrieben, dass ein saurer pH-Wert $< 5,5$ dazu führt, dass die Schmelzoberfläche aktiviert wird und Calcium- sowie Phosphationen freigesetzt werden, welche bei Vorhandensein ausreichender Fluoridmengen die Ausbildung von Calciumfluorid initiieren [8, 23, 27, 60, 108]. Die generierte Calciumfluoriddeckschicht stellt ein Fluoriddepot dar, dass folgende Aufgaben erfüllt:

1. Sie fördert durch Einlagerung von Fluorid in den Zahnschmelz die Remineralisation [38]
2. Die Einlagerung von Fluorid bedingt ebenfalls eine erhöhte Säureresistenz [31, 116, 117]
3. Das Fluorid besitzt eine antiglykolytische Wirkung, indem es den Stoffwechsel verschiedener Plaquebakterien hemmt [34, 43, 59, 80, 119]

Die verwendete Olaflurlösung wies mit 6,3 einen vergleichsweise hohen pH-Wert auf. Bereits im Jahr 1972 sahen Mellberg et al. einen Zusammenhang zwischen pH-Werten unter der kritischen Grenze von 5,5 und dem Fluoridierungserfolg. Fazit dieser Studie war, dass niedrigere pH-Werte, höhere Fluoridkonzentrationen und höhere Temperaturen als unabhängige Faktoren die Fluoridaufnahme steigern [89]. In einer *in-vitro*-Studie von Grøn und Caslavská aus dem Jahr 1981 wurde die topische *in-vitro*-Fluoridierung durch eine Natriummonofluorophosphatlösung untersucht. Die Inkubationszeit der Schmelzproben betrug ebenfalls 5 min. Durch Variation des pH-Wertes von 7,0 auf 3,2 war eine erhöhte Fluoridanreicherung gegeben. Das Ansäuern der Lösung begünstigte wahrscheinlich durch partielle Auflösung des Zahnschmelzes die Penetration in den Zahnschmelz [39]. Allerdings gibt es auch Studien wie jene von Duke et al. aus dem Jahr 1978, welche die angesäuerte Fluoridbehandlung in Frage stellen und keine wesentlichen Vorteile gegenüber neutralen Fluoridlösungen sehen [26].

Dawes et al. kamen im Jahr 2003 zu der Schlussfolgerung, dass es keinen definitiven kritischen pH-Wert gibt, der zur Auflösung der Schmelzsubstanz führt. Denn der kritische pH-Wert steht in proportionaler Abhängigkeit zum Calcium- und Phosphatgehalt in der Plaque- und Speichelflüssigkeit und variiert somit individuell. Unter solch einem individuellen kritischen pH-Wert ist die Lösung – in diesem Fall die Plaque- und Speichelflüssigkeit – gegenüber dem Zahnschmelz untersättigt, sodass die Mineralien solange herausgelöst werden, bis die Lösung gesättigt ist [21, 73]. Möglicherweise wäre es einer Oaflurlösung mit einem saureren pH-Wert gelungen, die 2 h-Pellikel zu durchdringen und eine Calciumfluoriddeckschicht zu generieren. Die Studie von Scholz et al. zeigte bereits, dass mit einem Aminfluorid-Gel (pH 4,75) die Etablierung einer Fluoriddeckschicht auf 2 h-pellikelbedecktem Zahnschmelz gelang [113]. Für zukünftige Studien sollte dieser Ansatz verfolgt werden und der pH-Wert auf < 5 eingestellt werden.

5.4 Schlussfolgerungen und Ausblick

Im Rahmen dieser Studie wurde mittels hochkonzentrierter Olaflurlösung (10.000 ppm) eine homogene und reproduzierbare Calciumfluoriddeckschicht auf dem pellikelfreien Zahnschmelz etabliert, welche verschiedenen *in-vitro*-Reinigungsprotokollen standhielt. Außerdem konnte nachgewiesen werden, dass es sich dabei um eine Auflagerung aus Calciumfluorid handelte. Wurden die Schmelzproben erst fluoridiert und anschließend intraoral exponiert, wurde der Fluoridierungserfolg nicht wesentlich beeinträchtigt. Als die Proben hingegen zunächst intraoral exponiert und anschließend fluoridiert wurden – was der klinischen Situation näherkommt – fiel ein wesentlicher Unterschied auf. Die 3 min-Pellikel stellte im Gegensatz zum 2 h-Pellikel kein Hindernis für die Ausbildung einer Calciumfluoridschicht dar. Nach den Ergebnissen der vorliegenden Studie wäre die Fluoridierung mittels hochkonzentrierter Olaflurlösung nur nach dem Zähneputzen oder nach einer professionellen Zahnreinigung zu empfehlen, da sich bereits auf dem 2 h-Pellikel keine Calciumfluoriddeckschicht etablieren ließ und somit ihre antikariogene Wirksamkeit nicht zum Tragen kommen kann. Diesbezüglich wäre es zukünftig interessant zu untersuchen, inwieweit die Modulation des pH-Wertes in einen saureren Bereich den Fluoridierungserfolg auf dem pellikelbedeckten Zahnschmelz beeinflusst. Nach den Ergebnissen von Hellwig et al. ist eine generierte Calciumfluoriddeckschicht nach 2 Tagen noch nachweisbar, während nach 5 Tagen circa 90 % wieder abgelöst sind [58]. Dies spräche für eine Empfehlung, die Zähne mindestens alle 5 Tage mit einem hochkonzentrierten Fluoridpräparat zu fluoridieren. Allerdings wäre es für zukünftige Studien sinnvoll, eine vollständige Assimilation an die klinischen Verhältnisse zu erreichen, indem die Versuchsreihe vollständig *in-situ* durchgeführt wird. Es sollte ebenfalls untersucht werden, wie lange das Calciumfluorid nachweisbar ist und wie die generierte Calciumfluoriddeckschicht auf mechanische Kräfte, die beim Zähneputzen entstehen, reagiert.

6 Literaturverzeichnis

1. Algarni AA, Mussi MCM, Moffa EB, Lippert F, Zero DT, Siqueira WL, Hara AT (2015) The impact of stannous, fluoride ions and its combination on enamel pellicle proteome and dental erosion prevention. *PloS One* 10:e0128196
2. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A (1999) Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion. *J Dent Res* 78(12):1821–1828
3. Arnold FA, Dean HT, Jay P, Knutson JW (1956) Effect of fluoridated public water supplies on dental caries prevalence. *Public Health Rep* 71(7):652–658
4. Attin T, Becker K, Wiedemeier DB, Schmidlin PR, Wegehaupt FJ (2017) Anti-erosive effect of a self-assembling peptide gel. *Swiss Dent J* 127(10):857–864
5. Beighton D (2005) The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Community Dent Oral Epidemiol.* 33(4):248–255
6. Bergdahl M, Bergdahl J (2000) Low unstimulated salivary flow and subjective oral dryness: association with medication, anxiety, depression, and stress. *J Dent Res* 79(9):1652–1658
7. Blayney JR, Hill IN (1967) Fluorine and dental caries. *J Am Dent Assoc.* 74(2):225–302
8. Bowen WH (2013) The Stephan Curve revisited. *Odontology* 101(1):2–8
9. Bratthall D, Hänsel-Petersson G, Sundberg H (1996) Reasons for the caries decline: what do the experts believe? *Eur J Oral Sci* 104(4 (Pt 2)):416–432
10. Busscher HJ, Uyen HMW, Stokroos I, Jongebloed WL (1989) A transmission electron microscopy study of the adsorption patterns of early developing artificial pellicles on human enamel. *Arch Oral Biol* 34(10):803–810
11. Carey CM (2014) Focus on Fluorides: Update on the Use of Fluoride for the Prevention of Dental Caries. *J Evid-Based Dent Pract.* 14 Suppl:95–102
12. Chan JC-Y, Hill FJ, Newman HN (1991) Uptake of fluoride by sound and artificially carious enamel in vitro following application of topical sodium and amine fluorides. *J Dent* 19(2):110–115
13. Cheng X, Liu J, Li J, Zhou X, Wang L, Liu J, Xu X (2017) Comparative effect of a stannous fluoride toothpaste and a sodium fluoride toothpaste on a multispecies biofilm. *Arch Oral Biol* 74:5–11
14. Chersoni S, Bertacci A, Pashley DH, Tay FR, Montebugnoli L, Prati C (2011) In vivo effects of fluoride on enamel permeability. *Clin Oral Investig* 15(4):443–449
15. Cooper AM, O'Malley LA, Elison SN, Armstrong R, Burnside G, Adair P, Dugdill L, Pine C (2013) Primary school-based behavioural interventions for preventing caries. *Cochrane Database Syst Rev* (5) CD009378
16. Cruz R, Ogaard B, Rölla G (1992) Uptake of KOH-soluble and KOH-insoluble fluoride in sound human enamel after topical application of a fluoride varnish (Duraphat) or a neutral 2% NaF

- solution in vitro. *Scand J Dent Res* 100(3):154–158
17. Deimling D, Hannig C, Hoth-Hannig W, Schmitz P, Schulte-Monting J, Hannig M (2007) Non-destructive visualisation of protective proteins in the in situ pellicle. *Clin Oral Investig* 11:211–216
 18. Deutsche Arbeitsgemeinschaft für Jugendzahnpflege e.V. (2017) Epidemiologische Begleituntersuchungen zur Gruppenprophylaxe 2016, Gutachten [Internet, zitiert am 20.06.2020]. https://www.daj.de/fileadmin/user_upload/PDF_Downloads/Epi_2016/Epi_final_BB1801_final.pdf
 19. Davidson CL, Boom G, Arends J (1973) Calcium Distribution in Human and Bovine Surface Enamel. *Caries Res* 7(4):349–359
 20. Dawes C, Jenkins G, Tonge C (1963) The nomenclature of the integuments of the enamel surface of teeth. *Br Dent J*; 16:65-68.
 21. Dawes C (2003) What Is the Critical pH and Why Does a Tooth Dissolve in Acid? *J Can Dent Assoc* 69(11):722-724
 22. Dawes C, Pedersen AML, Villa A, Ekström J, Proctor GB, Vissink A, Aframian D, McGowan R, Aliko A, Narayana N, Sia YW, Joshi RK, Jensen SB, Kerr AR, Wolff A (2015) The functions of human saliva: A review sponsored by the World Workshop on Oral Medicine VI. *Arch Oral Biol* 60(6):863–874
 23. de Moura Sieber V, GABA GmbH (2009) Präventivmaßnahmen bei Kindern und Jugendlichen in der Gruppenprophylaxe - Kommunikation mit Trägern, Pädagogen und Eltern [Internet, zitiert am 20.08.2020] <https://docplayer.org/35531025-Praeventionsmassnahmen-bei-kindern-und-jugendlichen-in-der-gruppenprophylaxe-kommunikation-mit-traegern-paedagogen-und-eltern.html>
 24. Dean HT (1947) Fluorine and dental caries. *Am J Orthod Oral Surg* 33(2):B49–B67
 25. Deutsche Gesellschaft für Präventivzahnmedizin (DGPZM) (2018) Neue Empfehlungen für Kinderzahnpasten mit Fluorid [Internet, zitiert am 10.08.2020]. <https://www.dgpzm.de/neue-empfehlungen-fuer-kinderzahnpasten-mit-fluorid>
 26. Duke S, Forward GC (1978) Calcium Fluoride and Fluoridated Hydroxyapatite Formation in Relation to the Acid Dissolution Rate of Enamel Mineral. *Caries Res* 12:12–20
 27. Duschner H, Uchtmann H (1988) Effect of Sodium Fluoride, Stannous Fluoride, Amine Hydrofluoride and Sodium Monofluorophosphate on the Formation of Precipitates Adhering to Bovine Enamel. *Caries Res* 22:65–71
 28. Esser M, Tinschert J, Marx R (1998) Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz. *DZZ* 53:713-717
 29. European Academy of Paediatric Dentistry (2009) Guidelines on the use of fluoride in children: an EAPD policy document. *Eur Arch Peadiatr Dent* 10(3):129–135
 30. Faller RV, Eversole SL (2014) Protective effects of SnF₂ - Part III. Mechanism of barrier layer

- attachment. *Int Dent J* 64 Suppl 1:16–21
31. Feagin F, Sierra O, Thiradilok S, Jeansonne B (1980) Effects of Fluoride in Remineralized Human Surface Enamel on Dissolution Resistance. *J Dent Res* 59(6):1016–1021
 32. Fejerskov O, Thylstrup A, Larsen MJ (1981) Rational Use of Fluorides in Caries Prevention. *Acta Odontol Scand* 39(4):241–249
 33. Flemming H-C, Wingender J (2010) The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol* 8(9):623–633
 34. Friedl K-H, Schmalz G, Miller K-A, Shams M (1997) Resin-modified glass ionomer cements: fluoride release and influence on *Streptococcus mutans* growth. *Eur J Oral Sci* 105(1):81–85
 35. GABA GmbH (2009) Fachinformation elmex® gelée [Internet, zitiert am 03.10.2020] https://s3.eu-central-1.amazonaws.com/prod-cerebro-ifap/media_all/14318.pdf
 36. GABA GmbH (2010) Gebrauchsinformation: Information für den Anwender elmex fluid [Internet, zitiert am 10.06.2020]. <https://www.apomio.de/uploads/package-inserts/product/17711.pdf>
 37. Gallo J, Holinka M, Moucha CS (2014) Antibacterial Surface Treatment for Orthopaedic Implants. *Int J Mol Sci* 15(8):13849–13880
 38. Grewal N, Sharma N, Kaur N (2018) Surface remineralization potential of nano-hydroxyapatite, sodium monofluorophosphate, and amine fluoride containing dentifrices on primary and permanent enamel surfaces: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 36(2):158–166
 39. Grøn P, Caslavská V (1981) Fluoride deposition in enamel from monofluorophosphate application. *Caries Res* 15(1):90–97
 40. Gülzow HJ, Sudbrake C (2003) Ein moderner Wirkstoff: 40 Jahre Kariesschutz mit Aminfluorid [Internet, zitiert am 05.04.2020]. <https://www.zm-online.de/archiv/2003/15/zahnmedizin/ein-moderner-wirkstoff-40-jahre-kariesschutz-mit-aminfluorid/>
 41. Güth-Thiel S, Kraus-Kuleszka I, Mantz H, Hoth-Hannig W, Hähl H, Dudek J, Jacobs K, Hannig M (2019) Comprehensive measurements of salivary pellicle thickness formed at different intraoral sites on Si wafers and bovine enamel. *Colloids Surf B Biointerfaces* 174:246–251
 42. Hahn Berg IC, Lindh L, Arnebrant T (2004) Intraoral lubrication of PRP-1, statherin and mucin as studied by AFM. *Biofouling* 20(1):65–70
 43. Hamilton IR (1990) Biochemical Effects of Fluoride on Oral Bacteria. *J Dent Res* 69:660–667
 44. Hannig M (1999) Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period. *Clin Oral Investig* 3(2):88–95
 45. Hannig M (2002) The protective nature of the salivary pellicle. *Int Dent J* 52:417–423
 46. Hannig C, Hamkens A, Becker K, Attin R, Attin T (2005) Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro. *Arch Oral Biol* 50(6):541–552
 47. Hannig M, Fiebiger M, Güntzer M, Döbert A, Zimehl R, Nekrashevych Y (2004) Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle. *Arch Oral Biol* 49:903–910
 48. Hannig M, Joiner A (2006) The structure, function and properties of the acquired pellicle.

49. Hannig M, Hannig C (2007) Der initiale orale Biofilm – pathogen oder protektiv? *Oralprophylaxe & Kinderzahnheilkunde* 29:73-81
50. Hannig C, Follo M, Hellwig E, Al-Ahmad A (2010) Visualization of adherent micro-organisms using different techniques. *J Med Microbiol* 59:1–7
51. Hannig C, Wagenschwanz C, Pötschke S, Kümmerer K, Kensche A, Hoth-Hannig W, Hannig M (2012) Effect of safflower oil on the protective properties of the in situ formed salivary pellicle. *Caries Res* 46(5):496–506
52. Hannig M, Hannig C (2014) The Pellicle and Erosion. *Erosive Tooth Wear. Monogr Oral Sci. Basel, Karger* 25:206–214
53. Hara AT, Queiroz CS, Paes Leme AF, Serra MC, Cury JA (2003) Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res* 37(5):339–344
54. Hara AT, Ando M, González-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT (2006) Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. *J Dent Res* 85:612–616
55. Hayes M, Carter E, Griffiths S The acidogenic microbial composition of dental plaque from caries-free and caries-prone people. *Arch Oral Biol* 1983; 28(5): 381-386.
56. Heijnsbroek M, Paraskevas S, Van der Weijden GA (2007) Fluoride interventions for root caries: a review. *Oral Health Prev Dent* 5(2):145–152
57. Hellwig E, Lennon AM (2004) Systemic versus topical fluoride. *Caries Res* 38(3):258–262
58. Hellwig E, Lussi A, Altenburger MJ (2010) The influence of saliva on the dissolution of calcium fluoride after application of different fluoride gels in vitro. *Quintessence Int (Berlin, Germany: 1985)* 41(9):773-777
59. Hellwig E, Klimek J, Attin T (2013) *Einführung in die Zahnerhaltung (6. überarbeitete Auflage)* Deutscher Zahnärzte Verlag; 4:124-147.
60. Hellwig E, Klimek J, Lussi A (2013) Fluoride – Wirkungsmechanismen und Empfehlungen für deren Gebrauch [Internet, zitiert am 20.08.2020]. http://www.zmk-aktuell.de/fachgebiete/prophylaxe/story/fluoride--wirkungsmechanismen-und-empfehlungen-fuer-deren-gebrauch__977.html
61. Holler BE, Friedl K-H, Jung H, Hiller K-A, Schmalz G (2002) Fluoride uptake and distribution in enamel and dentin after application of different fluoride solutions. *Clin Oral Investig* 6(3):137–144
62. Human Microbiome Project Consortium (2012) Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 486:207–214
63. Imfeld T, Sener B (1997) Wirkung von Zinnfluorid-Gels auf Dentin. Zinnaufnahme und Säurelöslichkeit von menschlichem Dentin nach In-vitro-Behandlung mit verschiedenen Zinnfluorid-Gels. *Acta Med Dent Helv* 2:17-22
64. Imfeld T, Sener B, Kuytz C, Brodowski D (1999) Mechanische und chemische Wirkung einer

- neuen Zinnfluorid-Zahnpaste auf Dentin; *Acta Med Dent Helv* 4:107-114
65. Johannsen A, Emilson C-G, Johannsen G, Konradsson K, Lingström P, Ramberg P (2019) Effects of stabilized stannous fluoride dentifrice on dental calculus, dental plaque, gingivitis, halitosis and stain: A systematic review. *Heliyon* 5(12):e02850
 66. Kambara M, Norde W (1995) Influence of Fluoride Applications on Some Physicochemical Surface Properties of Synthetic Hydroxyapatite and Human Dental Enamel and Its Consequences for Protein Adsorption. *Caries Res* 29:210–217
 67. Kensche A, Buschbeck E, König B, Koch M, Kirsch J, Hannig C, Hannig M (2019) Effect of fluoride mouthrinses and stannous ions on the erosion protective properties of the in situ pellicle. *Sci Rep* 9:5336
 68. Kneist S, Callaway A (2013) Von Generalisten und Spezialisten: Die Rolle der Bakterien in der erweiterten ökologischen Plaquehypothese. [Internet, zitiert am 22.02.2021] http://www.zmk-aktuell.de/fachgebiete/allgemeine-zahnheilkunde/story/von-generalisten-und-spezialisten-die-rolle-der-bakterien-in-der-erweiterten-oekologischen-plaquehypothese__918.html
 69. Kirkegaard E (1977) In vitro Fluoride Uptake in Human Dental Enamel from Various Fluoride Solutions. *Caries Res* 11:16–23
 70. Kirsch J, Hannig M, Winkel P, Basche S, Leis B, Pütz N, Kensche A, Hannig C (2019) Influence of pure fluorides and stannous ions on the initial bacterial colonization in situ. *Sci Rep* 9:18499
 71. Klimek J (2012) Aminfluorid – ein moderner Wirkstoff zur Kariesprophylaxe; [Internet, zitiert am 22.02.2021] http://www.zmk-aktuell.de/fachgebiete/prophylaxe/story/aminfluorid--ein-moderner-wirkstoff-zur-kariesprophylaxe__727.html
 72. Lagerweij MD, Buchalla W, Kohnke S, Becker K, Lennon AM, Attin T (2006) Prevention of erosion and abrasion by a high fluoride concentration gel applied at high frequencies. *Caries Res* 40(2):148–153
 73. Larsen MJ (1990) Chemical events during tooth dissolution. *J Dent Res* 69 Spec No:575–580; discussion 634-636
 74. Leal SC, Bittar J, Portugal A, Falcão DP, Faber J, Zanotta P (2010) Medication in elderly people: its influence on salivary pattern, signs and symptoms of dry mouth. *Gerodontology* 27(2):129–133
 75. LeGeros RZ (1990) Chemical and crystallographic events in the caries process. *J Dent Res* 69 Spec No:567–574; discussion 634-636
 76. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V (2000) Saliva and dental caries. *Adv Dent Res* 14:40–47
 77. Lenzi TL, Montagner AF, Soares FZM, de Oliveira Rocha R (2016) Are topical fluorides effective for treating incipient carious lesions?: A systematic review and meta-analysis. *J Am Dent Assoc* 147(2):84-91.e1
 78. Lippert F, Lynch RJM (2014) Comparison of Knoop and Vickers surface microhardness and transverse microradiography for the study of early caries lesion formation in human and bovine

- enamel. *Arch Oral Biol* 59(7):704–710
79. Lippert F, Churchley D, Lynch RJ (2015) Effect of Lesion Baseline Severity and Mineral Distribution on Remineralization and Progression of Human and Bovine Dentin Caries Lesions. *Caries Res* 49:467–476
 80. Łukomska-Szymańska M, Zarzycka B, Grzegorzczak J, Sokołowski K, Pótorak K, Sokołowski J, Łapińska B (2016) Antibacterial Properties of Calcium Fluoride-Based Composite Materials: In Vitro Study. *BioMed Res Int* 2016:1048320
 81. Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabé E, Flaxman A, Naghavi M, Lopez A, Murray CJL (2013) Global Burden of Oral Conditions in 1990-2010: a systemic analysis. *J Dent Res* 92(7):592–597
 82. Marinho VCC, Chong LY, Worthington HV, Walsh T (2016) Fluoride mouthrinses for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 7:CD002284
 83. Marsh P, Martin M (2009) *Oral microbiology*. 5th ed, Elsevier, Edinburgh, 222p.
 84. Marsh PD (1994) Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 8:263–271
 85. Marsh PD (2006) Dental plaque as a biofilm and a microbial community – implications for health and disease. *BMC Oral Health* 6:S14
 86. Marsh PD, Devine DA (2011) How is the development of dental biofilms influenced by the host? *J Clin Periodontol* 38 Suppl 11:28–35
 87. Masood M, Masood Y, Newton T (2012) Impact of National Income and Inequality on Sugar and Caries Relationship. *Caries Res* 46:581–588
 88. McConnell MD, Liu Y, Nowak AP, Pilch S, Masters JG, Composto RJ (2009) Bacterial plaque retention on oral hard materials: Effect of surface roughness, surface composition, and physisorbed polycarboxylate. *J Biomed Mater Res A* 92A(4):1518-1527
 89. Mellberg JR, Loertscher KL (1972) Fluoride acquisition in vitro by sound human tooth enamel from sodium fluoride- and ammonium silicofluoride-phosphate solutions. *Arch Oral Biol* 17(7):1107–1116
 90. Mellberg JR (1992) Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res* 71 Spec No:913–919
 91. Meyer K, Khorshidi-Böhm M, Geurtsen W, Günay H (2014) An early oral health care program starting during pregnancy--a long-term study--phase V. *Clin Oral Investig* 18(3):863–872
 92. Paris S, Dörfer C, Meyer-Lückel H (2012). Karieskontrolle durch Beeinflussung des Biofilms. In: Meyer-Lückel H, Paris S, Ekstrand KR, Hrsg. *Karies: Wissenschaft und Klinische Praxis*. 1. Auflage. Stuttgart, Georg Thieme Verlag: 160-175
 93. Mok Y, Hill FJ, Newman HN (1990) Enamel Fluoride Uptake Affected by Site of Application: Comparing Sodium and Amine Fluorides. *Caries Res* 24:11–17
 94. Muhler JC (1958) The Effect of a Modified Stannous Fluoride-Calcium Pyrophosphate Dentifrice on Dental Caries in Children: *J Dent Res* 37(3):448-450

95. Nathan K (2020) Entscheidend ist die Plaquekontrolle [Internet, zitiert am 10.08.2020]. <https://www.quintessenz-news.de/entscheidend-ist-die-plaquekontrolle/>
96. Nekrashevych Y, Hannig M, Stösser L (2004) Assessment of enamel erosion and protective effect of salivary pellicle by surface roughness analysis and scanning electron microscopy. *Oral Health Prev Dent* 2(1):5–11
97. Ogaard B, Rølla G, Ruben J, Dijkman T, Arends J (1988) Microradiographic study of demineralization of shark enamel in a human caries model. *Scand J Dent Res* 96(3):209–211
98. Ota K, Kikuchi S, Beierle JW (1989) Stannous fluoride and its effects on oral microbial adhesive properties in vitro. *Pediatr Dent* 11(1):21–25
99. Pandit S, Cai J-N, Jung J-E, Jeon J-G (2015) Effect of 1-Minute Fluoride Treatment on Potential Virulence and Viability of a Cariogenic Biofilm. *Caries Res* 49:449–457
100. Paris S, Meyer-Lückel H (2012). Paradigmenwechsel. In: Paris S, Ekstrand K, Meyer-Lückel H, Hrsg. *Karies: Wissenschaft und klinische Praxis*. 1. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag: 73-75.
101. Pearce EIF (1983) A Microradiographic and Chemical Comparison of in vitro Systems for the Simulation of Incipient Caries in Abraded Bovine Enamel. *J Dent Res* 62(9):969–974
102. Percival SL, Bowler PG (2004) Biofilms and Their Potential Role in Wound Healing [Internet, zitiert am 16.08.2020]. <https://www.woundsresearch.com/article/2870>
103. Petersen PE, Phantumvanit P (2012) Perspectives in the effective use of fluoride in Asia. *J Dent Res* 91(2):119–121
104. Petzold M (2001) The influence of different fluoride compounds and treatment conditions on dental enamel: a descriptive in vitro study of the CaF₂ precipitation and microstructure. *Caries Res* 35 Suppl 1:45–51
105. Prada-López I, Quintas V, Vilaboa C, Suárez-Quintanilla D, Tomás I (2016) Devices for In situ Development of Non-disturbed Oral Biofilm. A Systematic Review. *Front Microbiol* 7:1055
106. PubChem Stannous fluoride [Internet, zitiert am 15.06.2020]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24550>
107. Quirynen M, Bollen CM (1995) The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J Clin Periodontol* 22(1):1–14
108. Rølla G, Saxegaard E (1990) Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition. *J Dent Res* 69 Spec No:780–785; discussion 820-823
109. Rošin-Grget K, Peroš K, Sutej I, Bašić K (2013) The cariostatic mechanisms of fluoride. *Acta Medica Acad* 42(2):179–188
110. Scaramucci T, João-Souza SH, Lippert F, Eckert GJ, Aoki IV, Hara AT (2016) Influence of Toothbrushing on the Antierosive Effect of Film-Forming Agents. *Caries Res* 50:104–110

111. Schlesinger ER, Overton DE, Chase HC (1953) Newburgh-Kingston Caries Fluorine Study. V. Pediatric Aspects—Continuation Report. *Am J Public Health Nations Health* 43(8):1011–1015
112. Schlüter N, Ganß C, Luka B (2017) Biofilmentfernung und Kariesprävention – chemisch oder doch lieber mechanisch? *Zahnmed Up2date* 11:455–471
113. Scholz KJ, Federlin M, Hiller K-A, Ebensberger H, Ferstl G, Buchalla W (2019) EDX-analysis of fluoride precipitation on human enamel. *Sci Rep* 9:13442
114. Schwandt A (2013) Intensivfluoridierung bei Erwachsenen – ZWP online – das Nachrichtenportal für die Dentalbranche [Internet, zitiert am 10.06.2020]. <https://www.zwp-online.info/fachgebiete/prophylaxe/prophylaxe/intensivfluoridierung-bei-erwachsenen>
115. Scimeca M, Bischetti S, Lamsira HK, Bonfiglio R, Bonanno E (2018) Energy Dispersive X-ray (EDX) microanalysis: A powerful tool in biomedical research and diagnosis. *Eur J Histochem EJH* 62(1):2841
116. Simmer JP, Simmer JP, Hardy NC, Hardy NC, Chinoy AF, Chinoy AF, Bartlett JD, Bartlett JD, Hu JC-C, Hu JC-C, Simmer JP, Simmer JP, Hardy NC, Hardy NC, Chinoy AF, Chinoy AF, Bartlett JD, Bartlett JD, Hu JC-C, Hu JC-C (2020) How fluoride protects dental enamel from demineralization. *J Int Soc Prev Community Dent* 10(2):134-141
117. Singer L, Dale MD, Armstrong WD (1965) Effect of High Fluoride Intake on Utilization of Dietary Calcium and on Solubility of Calcified Tissues: *J Dent Res* 44:582-586
118. Splith C Risiko- und evidenzbasierte Kariesprävention bei Kindern [Internet, zitiert am 16.05.2020]. https://www.pnc-aktuell.de/prophylaxe/story/risiko--und-evidenzbasierte-kariespraevention-bei-kindern__7048.html
119. Svanberg M, Mjör IA, Ørstavik D (1990) Mutans Streptococci in Plaque from Margins of Amalgam, Composite, and Glass-ionomer Restorations: *J Dent Res* 69(3):861-864
120. Tenuta LMA, Cerezetti RV, Del Bel Cury AA, Tabchoury CPM, Cury JA (2008) Fluoride release from CaF₂ and enamel demineralization. *J Dent Res* 87(11):1032–1036
121. Tinanoff N, Brady JM, Gross A (1976) The Effect of NaF and SnF₂ Mouthrinses on Bacterial Colonization of Tooth Enamel: TEM and SEM Studies. *Caries Res* 10:415–426
122. Tinanoff N (1995) Progress regarding the use of stannous fluoride in clinical dentistry. *J Clin Dent* 6 Spec No:37–40
123. Toumba KJ, Twetman S, Splieth C, Parnell C, van Loveren C, Lygidakis NA (2019) Guidelines on the use of fluoride for caries prevention in children: an updated EAPD policy document. *Eur Arch Paediatr Dent Off J Eur Acad Paediatr Dent* 20(6):507–516
124. Tschoppe P, Meyer-Lueckel H (2011) Mineral distribution of artificial dentinal caries lesions after treatment with fluoride agents in combination with saliva substitutes. *Arch Oral Biol* 56(8):775–784
125. van 't Hof W, Veerman ECI, Nieuw Amerongen AV, Ligtenberg AJM (2014) Antimicrobial defense systems in saliva. *Monogr Oral Sci* 24:40–51

126. Walsh T, Worthington HV, Glenny A-M, Marinho VC, Jeronic A (2019) Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries. *Cochrane Database Syst Rev* 3(3):CD007868
127. Wang XL, Cheng CY, Peng D, Wang B, Gan YH (2013) Inhibition of acidogenicity in dental plaque by sodium fluoride solution after sucrose rinse. *Chin J Dent Res Off J Sci Sect Chin Stomatol Assoc CSA* 16(2):137–144
128. West NX, Hellin N, Eusebio R, He T (2019) The erosion protection efficacy of a stabilized stannous fluoride dentifrice: An in situ randomized clinical trial. *Am J Dent* 32(3):138–142
129. Wierichs RJ, Kogel J, Lausch J, Esteves-Oliveira M, Meyer-Lueckel H (2017) Effects of Self-Assembling Peptide P11-4, Fluorides, and Caries Infiltration on Artificial Enamel Caries Lesions in vitro. *Caries Res* 51(5):451–459
130. Wikimedia Commons Die Chemie-Schule [Internet, zitiert am 10.03.2020]. <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/87/Olaflur.svg>
131. Wolff D, Kensch A, Rupf S, Hannig M, Hannig C (2014) Der orale Biofilm – neue Perspektiven zu einem alten Thema? The oral biofilm – new views on an old topic? *DZZ* 69(11):658–673
132. World Health Organization (2017) Sugars and dental caries [Internet, zitiert am 23.08.2020]. http://www.who.int/oral_health/publications/sugars-dental-caries-keyfacts/en/
133. Zhao IS, Gao SS, Hiraishi N, Burrow MF, Duangthip D, Mei ML, Lo EC-M, Chu C-H (2018) Mechanisms of silver diamine fluoride on arresting caries: a literature review. *Int Dent J* 68(2):67–76

7 Publikation / Danksagung

7.1 Publikation

Vorträge

Newsha Najmabadi, Ksenija Drushinina, Johanna Wolf, Norbert Pütz, Prof. Dr. Christian Hannig, PD Dr. Johanna Dudek, Prof. Dr. Matthias Hannig: Einfluss des oralen Biofilms auf die Bildung und die Persistenz von Fluoridschichten auf Zahnschmelz, DGZ-Tag der Wissenschaft/Universitäten 2018 in Dortmund

Posterbeiträge

Ksenija Drushinina, Newsha Najmabadi, PD Dr. Johanna Dudek, Prof. Dr. Matthias Hannig. Vergleichende Studien zur Bildung von Fluoridschichten auf Zahnschmelz, Posterbeitrag zur 32. Jahrestagung der DGZ im Verbund mit der DGPZM und der DGR²Z, der 25. Jahrestagung der DGKiZ und der 3. Jahrestagung der AG ZMB, Dortmund, September 2018

7.2 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich als Erstes ganz herzlich bei Prof. Dr. med. dent. Matthias Hannig bedanken, der mir als Doktorvater das Thema überlassen und mich bei der Erstellung dieser Arbeit stets unterstützt hat. Darüber hinaus danke ich ihm für seine konstruktive Kritik sowie die Begutachtung dieser Arbeit, die er mir trotz seiner Belastung in Klinik und Forschung entgegengebracht hat.

Außerdem gilt Frau PD Dr. rer. nat. Johanna Dudek mein besonderer Dank für ihre hervorragende, kompetente und fachliche Betreuung während des gesamten Zeitraumes. Ich bedanke mich für ihre Ratschläge und Tipps, das Begleiten der Experimente und für ihre positive und motivierende Art.

Weiterhin bedanke ich mich bei allen weiteren wissenschaftlichen Mitarbeitern der AG Prof. Dr. M. Hannig, insbesondere bei Herrn Norbert Pütz für die Unterstützung in den Sitzungen am Rasterelektronenmikroskop.

Ich danke meiner Mutter von ganzem Herzen für ihre liebevolle Unterstützung in jeder Lebenslage und für die Ermöglichung des Zahnmedizinstudiums.

Zuletzt möchte ich meinem geliebten Freund Lukas danken, der mir mit seiner Liebe und Geduld stets beiseite steht.

Die vorliegende Untersuchung erfolgte mit finanzieller Unterstützung durch die DFG (SFB 1027).

8 Anhang

8.1 Abkürzungsverzeichnis

σ	Standardabweichung
%	Prozent
° C	Grad Celsius
5' U	5 Minuten im Ultraschallbad
Abb.	Abbildung
AG	Arbeitsgemeinschaft
C	Kohlenstoff
C ₂₇ H ₆₀ F ₂ N ₂ O ₃	Olafur
Ca	Calcium
EDS	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
EDX	<i>engl. energy-dispersive X-ray spectroscopy</i>
et al.	<i>lat. et alteri</i>
F	Fluorid
g	Gramm
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
h	Stunde
H ₂ O	Wasser
KG	Kommanditgesellschaft
min	Minute/Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
n	Anzahl der untersuchten Prüfkörper
N	Stickstoff
Na	Natrium
nm	Nanometer
O	Sauerstoff
P	Phosphor
pH	<i>lat. potentia hydrogenii</i>
ppm	<i>engl. parts per million</i>
R	Spannweite
REM	Rasterlektronenmikroskop
s	Sekunde
SEM	<i>engl. scanning electron microscope</i>

Sn	Zinn
SnF ₂	Zinnfluorid
TEM	Transmissionselektronenmikroskop
Wt %	Massenanteil in Gewichtsprozent
\bar{X}	Mittelwert

8.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Strukturformel von Olaflur, hydrophiler Amin-Anteil mit Fluorid-Anion (blau), hydrophobe Alkylkette (rot) [130]	9
Abb. 2: Trageschiene mit fixierten Schmelzprüfkörpern, Regio 13-17	12
Abb. 3: Schematischer Versuchsablauf der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 1.000 ppm (A) und 10.000 ppm (B) Fluoridkonzentration	15
Abb. 4: Versuchsablaufschema der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit Olaflur nach vorheriger intraoraler Exposition der Schmelzprüfkörper	16
Abb. 5: Versuchsablaufschema der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit anschließender oraler Exposition	17
Abb. 6: Kontrolle mit destilliertem Wasser	19
Abb. 7: Ergebnisse der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Olaflurlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (1 h bzw. 6 x 5 min)	21
Abb. 8: Mittelwerte des Fluoridgehaltes nach der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Olaflurlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (1 h bzw. 6 x 5 min)	21
Abb. 9: Detailanalyse der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Olaflurlösung nach dem 1 h-Reinigungsprotokoll	22
Abb. 10: Ergebnisse der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 s, 1 h bzw. 6 x 5 min)	23
Abb. 11: Mittelwerte der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 s, 1 h bzw. 6 x 5 min)	24
Abb. 12: Detailanalyse der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung nach dem 5 s-Reinigungsprotokoll, EDS-Messung der hellen und dunklen Zone	24
Abb. 13: REM-Aufnahme eines Prüfkörpers bei 20.000-facher Vergrößerung nach <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 1.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung und Durchführung des 5 s-Reinigungsprotokolls	25
Abb. 14: Ergebnisse der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 s, 1 h bzw. 6 x 5 min)	26
Abb. 15: REM-Aufnahme, Globuli-Deckschicht bei 20.000-facher Vergrößerung	26
Abb. 16: Ergebnisse der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 min Ultraschallbad, 24 h)	27
Abb. 17: Darstellung der Mittelwerte der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olaflurlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 s, 1 h, 6 x 5 min, 5'U = 5 min Ultraschallbad, 24 h)	27
Abb. 18: Untersuchung der Eindringtiefe des Fluorids	28
Abb. 19: Ergebnisse der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 s, 5 min Ultraschallbad, 24 h)	30

Abb. 20: Gegenüberstellung zweier Prüfkörper nach Fluoridierung durch 10.000 ppm-haltige Zinnfluoridlösung und anschließendem Reinigungsprotokoll (1 h).....	31
Abb. 21: Gegenüberstellung zweier Prüfkörper nach Fluoridierung durch 10.000 ppm-haltige Zinnfluoridlösung und anschließendem Reinigungsprotokoll (6 x 5 min)	32
Abb. 22: Darstellung der Mittelwerte der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Zinnfluoridlösung nach unterschiedlichen Reinigungsprotokollen (5 s, 1 h, 6 x 5 min, 5*U= 5 min Ultraschallbad, 24 h)	32
Abb. 23: Analyse des Präzipitates im Aufbewahrungsgefäß der Zinnfluoridlösung	33
Abb. 24: Zusammenfassende Darstellung der Mittelwerte und der Standardabweichungen der <i>in-vitro</i> -Fluoridierungs-Versuchsreihe von Zahnschmelz mit Olafur und Zinnfluorid (5 s, 1 h, 6 x 5 min, 5*U= 5 min Ultraschallbad, 24 h).....	34
Abb. 25: Kontrolle: 3 min-Pellikel bzw. 2 h-Pellikel.....	35
Abb. 26: Ergebnisse der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung nach intraoraler Exposition.....	36
Abb. 27: REM-Aufnahmen bei 20.000-facher Vergrößerung von Schmelzprüfkörpern nach <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung und anschließender intraoraler Exposition (links 3 min, rechts 2 h).....	36
Abb. 28: Ergebnisse der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung von pellikelbedecktem Zahnschmelz.....	37
Abb. 29: REM-Aufnahme bei 20.000-facher Vergrößerung von oral exponierten Schmelzprüfkörpern (links 3 min, rechts 2 h) und anschließender <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung.....	38
Abb. 30: Mittelwerte der <i>in-vitro</i> -Fluoridierung mit 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung: Einfluss der 3 min-Pellikel bzw. der 2 h-Pellikel	38
Abb. 31: Zusammenfassung der Versuchsreihe mit 10.000 ppm-haltiger Olafurlösung	39

8.3 Materialliste

Alginat	Palgat Plus, 3M ESPE GmbH, Seefeld, Deutschland
Befestigungssilikon	President light body, Coltène/Whaledent GmbH und Co.KG, Langenau, Deutschland
Destilliertes Wasser	Aqua B. Braun, B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Diamanttrennscheibe	Schleiftrennmaschine WOCO 50p, Conrad GmbH, Clausthal, Deutschland
Duran®-Folien	Scheu-Dental, Iserlohn, Deutschland
Isopropylalkohol	2-Propanol 70 %, Otto Fischar GmbH & Co KG, Saarbrücken, Deutschland
Kohlegarn	Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland
Leitfähige Haftaufkleber	Plano Leit-Tabs, Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland
Binokular	Zoom-Stereomikroskope SMZ 140, Motiv GmbH, Wetzlar, Deutschland
Nassschleif- und Poliergerät	Buehler GmbH, Phoenix 3000, Düsseldorf, Deutschland
Natriumhypochloritlösung	Natriumhypochlorit-Lösung 3 % DAC, Aug. Hedinger GmbH & CoKG, Stuttgart, Deutschland
Olaflur	33 %ig, Octadecyldiamin-dihydrofluorid, Permcos GmbH, Stein, Schweiz
Papiertuch	Kimtech Sciene, Kimberly-Clark Professional, Roswell, Georgia, USA
Probenhalter aus Aluminium	Specimen Stubs, Agar Scientific Ltd., Essex, UK
Rasterelektronenmikroskop	XL 30 ESEM FEG, FEI Company, Eindhoven, Niederlande
Sputter-Coater	SCD 030, Lichtenstein
Superhartgips Klasse IV	Die-Stone Peach Klasse IV-Gips, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland
Thymollösung	Thymol 0,1 % Lösung, Apotheke im Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar, Deutschland
Tiefziehgerät	Erkopress ES 2004, Erkodent GmbH, Pfalzgrafenweiler, Deutschland
Ultraschallbad	Sonorex RK 100 H, Bandelin, Berlin, Deutschland
Zellkulturplatte x-well	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland
Zinnfluorid	Honeywell Specialty Chemicals Seelze GmbH, Seelze, Deutschland

9 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.